

FACULTE DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1932

THÈSE

POUR

N°
433

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Caroline Mathilde PAR

G.-M. LAUR (Née HANDJÉRI)

Née à Noer (Danemark), le 6 octobre 1900

LES RÉTICULOCYTES ET LES RÉTICULOCYTOSES

Travail du Laboratoire
de Pathologie expérimentale et comparée (FACULTÉ DE MÉDECINE)
et du Service du P^r N. FIESSINGER (HOPITAL DE LA CHARITÉ)

Président : M. N. FIESSINGER, professeur

PARIS

G. DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1932

881





Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTE DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1932

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Caroline Mathilde

G.-M. LAUR (Née HANDJÉRI)

Née à Noer (Danemark), le 6 octobre 1900

LES RÉTICULOCYTES ET LES RÉTICULOCYTOSES

Travail du Laboratoire

de Pathologie expérimentale et comparée (FACULTÉ DE MÉDECINE)
et du Service du P^r N. FIESSINGER (HOPITAL DE LA CHARITÉ)

Président : M. N. FIESSINGER, professeur

PARIS

G. DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1932

DOYEN... M. BALTHAZARD

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale.....	GRÉGOIRE.
Physiologie	BINET.
Physique médicale.....	STROHL.
Chimie médicale.....	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.....	BAUDOUIN.
Pathologie médicale.....	CLERC.
Pathologie chirurgicale.....	LENORMANT.
Anatomie pathologique.....	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.....	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et médecine préventive.....	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	MÉNÉTRIER.
Pathologie expérimentale et comparée.....	RATHERY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	Maurice VILLARET.
	CARNOT.
Clinique médicale.....	BEZANÇON.
	ACHARD.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants.....	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale...	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.....	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	N...
	N...
Clinique chirurgicale.....	CUNÉO.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique.....	TERRIEN.
Clinique urologique.....	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.....	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.....	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale.....	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique.....	SERGENT.
Clinique de la tuberculose.....	Léon BERNARD.
Professeurs sans chaire.....	MAUCLAIRE.
	MULON.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE.. Neurologie et Psychiatrie.
 N. Physiologie.
 AUBERTIN Pathologie médicale.
 BÉNARD *(H.)... Pathologie médicale.
 BROCCQ Pathologie chirurgicale.
 BRULÉ Pathologie médicale.
 CADENAT Pathologie chirurgicale.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHABROL Pathologie médicale.
 CHEVALLIER .. Pathologie médicale.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
 chirurgicale.
 DOGNON Physique.
 DONZELOT Pathologie médicale.
 ÉCALLE Obstétrique.
 FEY Urologie.
 GARNIER Pathologie expérimentale.
 GASTINEL Bactériologie.
 GATELLIER ... Pathologie chirurgicale.
 GIROUD Histologie.
 HARVIER Pathologie médicale.
 HAZARD Pharmacologie.
 HOVELACQUE . Anatomie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 HUTINEL Pathologie médicale.
 JOANNON Hygiène.
 HALPHEN..... Oto-rhino-laryngologie.

MM.

LABBÉ (Henri) . Chimie biologique.
 LAROCHE (G.).. Pathologie médicale.
 LEMAITRE Oto-rhino-laryngologie.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 LÉVY-VALENSI. Neuro-psychiatrie.
 LIAN Pathologie médicale.
 N. Histologie.
 MONDOR Pathologie chirurgicale.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET . Pathologie chirurgicale.
 MOURE Pathologie chirurgicale.
 OBERLING Anatomie pathologique.
 OLIVIER Anatomie.
 PIÉDELIEVRE Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 QUÉNU Pathologie chirurgicale.
 RICHEL Physiologie.
 SANNIÉ Chimie biologique.
 SÉZARY Dermatologie et Syphili-
 graphie.
 VALLERY-RADOT (Pasteur). Pathologie
 médicale.
 VAUDESCAL .. Obstétrique.
 VELTER Ophtalmologie.
 VERNE Histologie.
 VIGNES Obstétrique.
 TROISIER..... Pathologie expérimentale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

BUSQUET Pharmacologie.
 GUÉNIOT Obstétrique.
 LEQUEUX Obstétrique.
 LEROUX Anatomie pathologique.

MM.

NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
 RETTERER Histologie.
 ZIMMERN Physique.

V. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.

ABRAMI Clinique médicale.
 CHIRAY Clinique médicale.
 DEBRÉ Clinique médicale.
 DUVOIR Clinique médicale.
 FIESSINGER .. Clinique médicale.
 LAIGNEL-LEVASTINE. Clinique médicale.
 BASSET Clinique chirurgicale.
 CHEVASSU Clinique chirurgicale.

MM.

HEITZ-BOYER Clinique chirurgicale.
 MATHIEU Clinique chirurgicale.
 MOCQUOT Clinique chirurgicale.
 PROUST Clinique chirurgicale.
 SCHWARTZ ... Clinique chirurgicale.
 LE LORIER Clinique obstétricale.
 LÉVY-SOLAL .. Clinique obstétricale.
 METZGER Clinique obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, professeur sans
 chaire
 FREY
 CHAILLEY-BERT
 LEDOUX-LEBARD
 WEIL-HALLÉ.....

Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez
 l'adulte pour les accidentés du travail, les muti-
 lés de guerre et les infirmes adultes.
 Stomatologie.
 Éducation physique.
 Radiologie clinique.
 Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MARI

A MON FILS

A MES PARENTS

*Témoignage de ma gratitude et de mon
affection.*

A MES BEAUX-PARENTS

En affectueux dévouement.

A MES CAMARADES

LES D^{rs} G. ALBOT ET F. THIEBAUT

Anciens internes des Hôpitaux

AU D^r J. DIERYCK

*En souvenir de notre collaboration à
l'hôpital de la Charité, 1931.*

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
LE PROFESSEUR NOËL FIESSINGER

*Qui, pendant sept années a guidé avec
bienveillance notre travail et a inspiré cette
thèse. En hommage dévoué et reconnais-
sant.*

LES RÉTICULOCYTES ET LES RÉTICULOCYTOSES

On ne peut lire l'hémogramme d'une anémie de BIERMER traitée par la méthode de WHIPPLE (ingestion du foie), sans voir une colonne étiquetée « réticulocytes ». Elle est généralement placée après celle des globules rouges, de l'hémoglobine, de la valeur globulaire. Dans les tableaux une courbe de réticulocytes accompagne les courbes des variations globulaires et hémoglobiniques.

Quel est donc cet élément auquel on attribue une importance si marquée dans l'étude de la récupération sanguine des anémies ?

Les réticulocytes sont des hématies dans lesquelles on peut, grâce à certaines techniques, mettre en évidence un réseau de granulations et de fibrilles. Appelées jadis hématies réticulo-filamenteuses, hématies granuleuses ou granulo-filamenteuses, ou en anglais « Reticulated cells », elles ont été désignées par KRUMBHAAR (en 1926) sous le nom de réticulocytes ; ce terme simple et imagé est devenu classique depuis lors.

Les conditions nécessaires pour faire apparaître le reticulum dans les hématies sont au nombre de deux ; elles sont absolues. Il faut :

- 1° que la préparation soit non fixée ;
- 2° que le colorant soit de nature basique.

On se sert généralement à cet effet de la coloration dite « vitale », ou mieux « post vitale » car les cellules se colorent après leur mort somatique, mais avant leur mort moléculaire. Le sang fraîchement prélevé est mis en contact avec un colorant basique.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

C'est en expérimentant des colorants alors « nouveaux » qu'EHRlich découvrit fortuitement les réticulocytes en 1881. Le sang qui en présentait le plus grand nombre était celui d'un anémique. EHRlich présente l'observation de ce malade à la Société des Médecins de la Charité de Berlin ; il insiste sur cette curieuse modification des hématies, décrit « le réseau élégant et ténu » (elegante, feine Netze) mais sans tirer de conclusions de cette découverte. « Ces réseaux, bleus après le contact de bleu de méthylène, se voient en nombre infime chez les sujets normaux », dit-il.

Jusqu'en 1888 on ne publie plus rien à ce sujet ; alors FOA et MONDINO observent de fines granulations et « rameaux » bleus dans les hématies d'un paludéen. L'étalement de sang non fixé avait été traité par une solution aqueuse de bleu de méthylène. La première fois que les réticulocytes ont été dessinés ce semble bien être par CELLI et GARNIÈRE ; de superbes planches en couleurs accompagnent leur travail paru en 1889. Ces auteurs mélangent la goutte de sang qui sourd de la piqure avec une goutte d'une solution aqueuse d'un bleu basique : c'est la technique que BIZZOZERO utilisait pour son étude des « plaquettes sanguines ». On s'étonne que BIZZOZERO qui travaillait tant avec des « colorations vitales » ne mentionne jamais de granulations dans les globules rouges.

Peu de temps après les descriptions des Italiens paraît un travail de GABRITSCHESKY (1891). Il aurait observé des « gra-

nula » très réfringents, très bleus, très ronds dans les hématies d'un anémique. Il admet qu'elles ne présentent pas tout à fait le même aspect que celles vues par les auteurs précédents. Mais lisons sa technique : « après avoir *fixé* les préparations soit par l'alcool éthéré, soit à la flamme, on les traite par une solution... ». Tout le secret est là. GABRITSCHESKY n'a pas observé des réticulocytes. Il pose inconsciemment la première pierre de cette Tour de Babel que constituera bientôt l'étude de ces altérations hématiques.

On cite généralement VON NOORDEN comme un des premiers auteurs qui ont décrit les hématies réticulo-filamenteuses. Dans son excellente étude sur les anémies (modifications sanguines, métabolisme, lésions nerveuses) où il trace un tableau très intéressant des troubles neuro-anémiques de la maladie de BIERMER, il n'est pas question d'autres inclusions dans les globules rouges que des noyaux. Il observe d'ailleurs des préparations fixées à la chaleur. Cependant, il fait remarquer qu'EHRLICH lui-même lui a fait l'honneur d'examiner quelques-unes de ses préparations.

L'année suivante (1893) ASKANAZY, publiant un cas d'anémie pernicieuse à évolution mortelle, attire l'attention sur la coïncidence de la polychromatophilie des hématies et de la distribution de la substance réticulo-filamenteuse. Il traitait des étalements non fixés par une solution aqueuse de bleu de méthylène-éosine. Enfin, LATZARUS présente de très belles préparations à la Société de Médecine de Berlin ; dans les globules rouges de son malade (un anémique) on trouve de belles granulations bleues.

De cette littérature ancienne il ressort deux considérations qui vont prendre une importance très grande par la suite.

1° Des granulations sont vues à l'intérieur de globules rouges, tant sur les préparations fixées que non fixées.

2° Ces granulations sont surtout nombreuses dans le sang d'anémiques.

On oublia vite que les granulations n'ont pas tout à fait le même aspect suivant leur mode de mise en évidence. Et le fait qu'on examinait bien plus souvent le sang des anémiques, à

cause de l'association d'idées anémies = maladie du sang, fut la raison pour laquelle on ne signalait pas la présence de ces hématies granuleuses dans d'autres maladies. Dans un chapitre spécial de notre thèse, nous montrerons quelles sont les diverses théories et interprétations auxquelles ont donné lieu ces découvertes.

La thèse de PAPPENHEIM (1894) marque une nouvelle étape dans le progrès des techniques hématologiques. Cet auteur, se basant sur les recherches d'EHRlich au sujet de colorants basiques, étudie systématiquement leur comportement dans la cellule fraîchement isolée de l'organisme, encore quasi vivante. Le rouge neutre, lui, paraît un excellent colorant, peu nocif ; dans les globules rouges il met en évidence de fines brindilles reliées par des grains plus denses, mais toutes les hématies ne présentent pas cet aspect ; « les hématies réticulo-filamenteuses s'observent en petit nombre dans le sang normal », écrira-t-il plus tard dans son travail avec ISRAEL.

Un auteur qui, très injustement, n'est jamais cité dans la bibliographie des réticulocytes est HORSLEY. Traitant du sang fraîchement prélevé par du bleu de méthylène pur, il observe des filaments et des amas de granulations d'un beau bleu lui-même dans le protoplasma de certains globules rouges. Il étudie à ce point de vue le sang de nombreux animaux, y compris l'homme ; des amphibiens, des oiseaux, surtout chez la salamandre le réseau granuleux serait exceptionnellement joli... Autre fait curieux : il cite ARNDT, de GREIFSWALD, comme « ayant décrit ces aspects il y a bien longtemps, alors que cet auteur travaillait avec le bleu de méthyle ». Une autre référence, non moins vague, nous indiquait *Virchow's Archiv*, entre 1870 et 1880 comme source des travaux de ARNDT, qui était histologiste en effet. Nous n'avons pu trouver de mention au sujet du sang. Le fait mériterait des recherches plus précises.

Voici donc deux auteurs qui signalent expressément l'existence de substance granulo-filamenteuse à l'état normal dans les globules rouges, traités par des colorants basiques sans fixation

préalable. Le fait passa inaperçu. Les esprits sont fascinés par l'image que suggère le terme « granulation » d'autant plus qu'en 1899 GRAWITZ découvre un nombre considérable de globules rouges bourrés de granulations dans le sang d'un peintre atteint de coliques de plomb. GRAWITZ détaille sa technique : fixation des étalements 1 heure dans l'alcool. Il découvre ainsi les « érythrocytes ponctués » du saturnisme, spécifiques à l'intoxication du plomb. Ils n'ont rien de commun avec les réticulocytes. Nous leur conserverons dorénavant après N. FIESSINGER et P. ABRAMI, le nom d'« érythrocytes ponctués » pour éviter toute confusion.

Pour bien saisir l'extrême complexité de la question, telle qu'elle existait à la veille du xx^e siècle on devra lire les comptes rendus des séances de décembre 1899 de la Société des Médecins de Berlin. Le sujet d'actualité était alors « présence de granulations dans les hématies au cours de l'anémie ». La confusion entre les hématies granulo-fibromateuses (réticulocytes) et les érythrocytes ponctués atteint son maximum. Ce sont ces derniers, visibles seulement après fixation, que PLEHN, qui revient justement du Cameroun, décrit dans un cas d'anémie tropicale. LITTEN, au contraire, parle de granulations dans les hématies non fixées, traitées par divers bleus basiques. STRAUSS prend la parole en disant que lui-même avait observé des granulations dans certaines hématies, chez des cancéreux anémiques ; cet auteur ne précise pas sa technique. BLOCH a fait une découverte analogue dans un cas d'anémie grave. BORCHHARD, qui étudie le sang de souris intoxiquées expérimentalement par du plomb se souvient d'avoir observé lui aussi des granulations dans les globules rouges. GRAWITZ lui répond qu'il a lui-même signalé ce phénomène dans un article paru récemment. Un seul hématologiste qui jusque-là n'a pas pris la parole, s'aperçoit du point de départ des divergences : c'est UHLMANN. Il fait remarquer, que si l'on n'arrive pas à s'entendre c'est que les granulations observées sur les préparations fixées ne sont peut-être pas les mêmes que les granulations observées dans les préparations humides. La dernière séance de l'année se termine

sans que l'on soit arrivé à un accord, tant sur la nature que sur la signification biologique des granulations. L'impression générale est qu'il existe un rapport entre l'anémie et les éléments granuleux observés dans les hématies. Cependant SENATOR, qui préside n'en est pas convaincu.

Ce sont justement deux élèves de SENATOR, qui, un peu plus tard (1901), mettent au point la question. En effet, ROSIN et BIBERGEIL étudient toutes les phases de l'imprégnation des cellules sanguines, sénescences par divers colorants. Nous y reviendrons en détail plus loin (chapitre « Techniques »). Ils obtiennent d'excellents résultats en employant la technique que LEVADITI venait de publier en France, retrouvant comme celui-ci, de délicats lacis et résilles dans les globules rouges au moment où le protoplasma commence à mourir. Grâce à quelques grains de rouge neutre, mis en contact avec du sang entre lame et lamelle, les préparations étant lutées, conservées à 37°, ces auteurs ont pu suivre pendant des heures la mort progressive de la cellule sanguine.

L'année suivante (1902-1903) c'est surtout en Italie que vont paraître de nombreux et intéressants travaux sur les réticulocytes : ceux de SACERDOTTI, DONATI, POZZI, FERRATA. Tous travaillent sur des préparations fraîches, non fixées, en faisant varier la nature du colorant et le titre des dilutions.

La thèse de BIBERGEIL paraît en 1904 ; elle résume toutes les connaissances sur les colorations dites « vitales » du sang, que l'on avait acquises à cette époque.

Puis FLEICHMANN publie une étude comparée des hématies réticulo-filamenteuses (réticulocytes) et des érythrocytes ponctuels. De soigneuses numérations montrent la divergence des chiffres respectifs de ces éléments dans un même sang. Il propose le nom de « métagranula » pour désigner les granulations qui relient les mailles du réticulum, visibles sur les préparations humides, non fixées. CESARIS DEMEL publie un article dans le même sens peu après FLEICHMANN. Une vive discussion surgit à cet effet dans la revue *Folia Haematologica*, où prennent part PAPPENHEIM, GRAWITZ et un nombre considérable d'héma-

tologistes. Elle n'éclaire point d'un jour nouveau ce curieux problème.

Enfin, en 1907, une notion nouvelle vient écarter définitivement les dernières confusions qui persistaient, confusions entre les hématies réticulo-filamenteuses et les érythrocytes ponctués. Elle découle des recherches du Professeur CHAUFFARD et de Noël FIESSINGER à l'occasion des ictères hémolytiques.

Le Professeur CHAUFFARD ayant mis en relief dans les ictères congénitaux de l'adulte l'importance de l'hémolyse due à une fragilité anormale des globules rouges, l'hémolyse pouvait être due soit à une altération des globules rouges, soit à une altération du plasma ambiant. Le 8 novembre 1907, le Professeur CHAUFFARD et N. FIESSINGER rapportent un fait nouveau. Pour essayer de mettre en évidence morphologiquement une lésion du globule rouge ces auteurs traitèrent les étalements non fixés par le réactif de Pappenheim, qui est un mélange de solutions aqueuses de vert de méthyle et de pyronine. L'eau distillée fait sortir l'hémoglobine de l'hématie, qui ne conserve que sa coque, visible sous forme d'un petit cercle brun. Dans un grand nombre d'hématies provenant d'ictères hémolytiques, ces auteurs virent apparaître de fines granulations, rouge vif, en même temps que le contour de l'hématie apparaissait dilaté, boursoufflé; chez des sujets atteints d'autres maladies ces aspects ne se retrouvaient point, ou en nombre infime. Était-on en présence de la lésion spécifique de l'ictère dit hémolytique ?

Le Professeur CHAUFFARD et N. FIESSINGER, qui adoptent le nom « d'hématies granuleuses » pour désigner ces éléments, mettent en garde contre une interprétation hâtive de ce phénomène; ils admettent « qu'en matière aussi délicate des réserves s'imposent que seul le contrôle répété de faits ultérieurs aura le droit de faire disparaître ». Bientôt des preuves expérimentales vinrent confirmer l'hypothèse que ces granulations traduisent bien un état anormal du globule rouge, mais pas nécessairement une lésion. L'hémolyse provoquée *in vitro* soit par l'eau distillée, soit par le sérum d'anguilles, soit par le sérum anti-humain ne fait jamais apparaître la moindre gra-

nulation dans les globules rouges. Si l'on opère sur du sang qui présente *a priori* des hématies granuleuses, celles-ci résistent bien plus longtemps à l'hémolyse que les hématies d'aspect normal. Si l'on provoque une hémolyse *in vivo*, en injectant un agent hémolysant à petites doses à un lapin, on observe une poussée d'hématies granuleuses du 3^e au 6^e jour après l'injection ; cette poussée s'accompagne (avec un très léger décalage) d'une poussée de globules rouges jeunes, parfois nucléés, comme on peut le voir sur les préparations colorées avec un trichrome quelconque. MM. CHAUFFARD et FIESSINGER interprètent dès lors « l'apparition d'hématies granuleuses comme témoignant d'un mode spécial de réparation ou de dépense sanguine ». Ils ne tardent pas à trouver ces éléments en grand nombre dans la moelle osseuse en état de régénération hématopoiétique. En 1908, MM. N. FIESSINGER et P. ABRAMI comparent le chiffre des hématies granuleuses obtenues par hémolyse et le chiffre des hématies granulo-filamenteuses obtenues par coloration vitale au bleu basique. Ils constatent un parallélisme frappant entre les courbes de ces chiffres. Restait à établir quels étaient les rapports entre ces éléments d'une part, et les érythrocytes ponctués du saturnisme d'autre part, dont nous savons qu'on ne peut les observer qu'après fixation des étalements et coloration au bleu de Loeffler.

Noël FIESSINGER et A. PEIGNEY eurent l'occasion, en 1910, d'étudier la morphologie sanguine d'un malade atteint de coliques de plomb, assistant à la phase d'intoxication et d'anémie, puis à la phase de réparation sanguine et de guérison. Nous ne pourrions mieux faire que de citer textuellement les conclusions très importantes qui terminent le rapport de ces auteurs :

« ... L'étude des *érythrocytes ponctués* au cours de la colique de plomb permet d'affirmer une augmentation de leur taux, mais une augmentation passagère. Leur existence est liée à l'intoxication saturnine ; elle préexiste à la colique et lui succède.

« La recherche des *hématies granuleuses* par les techniques vitales et quasi-vitales montre qu'elles sont très augmentées

au cours de la colique de plomb, et qu'elles tombent rapidement à un taux normal après le traitement. Ces hématies granuleuses, éléments de rénovation sanguine traduisent une réaction légère des tissus hématopoiétiques. C'est pourquoi leur nombre diminue quand l'intoxication ayant cessé, l'anémie disparaît ». Nous reviendrons très en détail sur les notions de différenciation morphologique, clinique et expérimentale de ces éléments, au cours de notre travail.

Elles sont admirablement exposées par Noël FIESSINGER et Pierre ABRAMI et par M. BRULÉ dans sa thèse qui parut à cette époque. Ces auteurs établissent une distinction absolue et définitive entre la nature des hématies présentant des grains et filaments bleus après traitement par les colorations vitales et les hématies présentant des grains ou poussières bleues après fixation et coloration au bleu de Loeffler.

Le Professeur SABRAZÈS qui jusque-là avait soutenu l'identité de ces éléments se rallia à la conception désormais devenue classique de leur nature et origine absolument différentes.

Cette découverte française ne tarda pas à être également admise et confirmée à l'étranger. FERRATA et PAPPENHEIM l'exposent comme résolvant définitivement le problème des granulations intra-érythrocytaires, dans une série de notes parues dans *Folia Heamatologica* en mars 1910.

En Amérique cette thèse fut adoptée d'emblée, HAWES, 1910, de Boston, étudie les rapports entre la polychromatophilie et les granulations érythrocytaires fixées. Il propose le nom de « reticulated Red Blood Cells », et dit que son maître WRIGHT suggère l'abréviation « Reticulated Cells ». Son travail contient outre trois belles microphotographies une statistique des « hématies réticulées » à l'état normal et dans divers états pathologiques, en particulier chez des enfants nés avant terme où elles sont particulièrement abondantes.

Dans une revue générale de la question par ALEXIEFF parue dans les *Archives des Maladies du Cœur et du Sang*, nous trouvons mentionné le décalage dans le temps qui existe entre la poussée d'hématies granulo-filamenteuses et l'augmentation

définitive du chiffre des globules rouges au cours de la régénération sanguine post-anémique. RAVENNA avait déjà observé ce phénomène, dont nous verrons l'importance extrême en biologie sanguine.

De 1911 à 1914 c'est surtout en Amérique que paraissent des études au sujet de ces hématies réticulo-filamenteuses : la question est envisagée à un point de vue pratique, on cherche à utiliser le pourcentage de ces éléments en clinique.

VOGEL et MC MURDY (1913) étudient le comportement des hématies réticulo-filamenteuses après les *transfusions de sang* effectuées comme traitement de diverses anémies. Ils observent une augmentation de 5 à 20 % dans les 15 jours qui suivent cette intervention. Ils concluent : « qu'en la coloration vitale nous possédons un excellent témoin de l'activité hématopoiétique de la moelle osseuse ; elle peut servir de critère chaque fois que l'on veut suivre le processus de régénération dans les anémies ». On voit que ces auteurs admettent eux aussi que la forme réticulée du globule rouge représente un stade d'immaturité : et c'est dans ce sens que PEPPER (1913) interprète la formation du réticulum lorsqu'il étudie la résistance de ces éléments vis-à-vis de solutions salines hypo, iso et hypertoniques. Il constate, comme N. FIESSINGER et P. ABRAMI l'avaient fait avant lui, que les globules rouges réticulo-filamenteux sont plus résistants que les globules rouges adultes ordinaires.

Dans une série d'expériences très bien conduites ROBERTSON (Boston, 1917) montre qu'en provoquant une pléthore expérimentale par transfusions répétées le taux des hématies granulo-filamenteuses diminue dans le sang périphérique. Des lapins témoins et des lapins anémiés sont examinés de même. L'auteur donne le protocole très complet de ses expériences, ce qui permet de suivre facilement cette étude.

LEE, MINOT et MURPHY étudiant l'action de la splénectomie dans l'anémie pernicieuse confirment l'opinion générale que l'apparition d'hématies réticulo-filamenteuses est un bon critère de régénération sanguine.

Pendant ces années 1914-1918 la guerre sévit en Europe,

tandis qu'en Amérique les recherches s'effectuent dans des conditions plus normales. Cependant ce n'est qu'en 1920 que paraît de nouveau un important travail au sujet des hématies réticulo-filamenteuses. KRUMBHAAR les observe au cours d'une étude des anémies. Il propose de les désigner par le nom de « réticulocytes ». Sa technique pour les mettre en évidence est la méthode de coloration vitale : solution saline et bleu crésyl et examen des préparations humides entre lame et lamelle, avec objectif à immersion. L'appellation réticulocytes parut simple, courte, et adéquate. Elle fut adoptée très vite, elle est devenue classique par la suite.

Plusieurs travaux extrêmement importants paraissent en Amérique en 1921 au sujet des réticulocytes. D'abord une revue générale de CUNNINGHAM dans les *Arch. of Int. Med.* Il propose de surcolorer les préparations vitales (séchées après étalement) en les traitant par du Giemsa. On peut les conserver ainsi longtemps, mais l'alcool du Giemsa fait pâlir considérablement le réticulum bleu.

Un mémoire de KEY aborde la question d'un tout autre côté. Il montre en effet que la substance réticulo-filamenteuse n'a aucun rapport avec les mitochondries. C'était une réponse directe à COWDRY à la suite duquel un certain nombre d'auteurs avaient cru devoir interpréter toute inclusion cellulaire colorable par le vert Janus B comme étant de nature mitochondriale. KEY reprend ensuite l'étude de l'action de la température et de diverses substances anticoagulantes sur les hématies et particulièrement sur les réticulocytes et leur mode de coloration par divers colorants basiques. Ce mémoire est d'un intérêt considérable et nous aurons l'occasion de nous y reporter plus d'une fois au cours de la discussion sur la nature de la substance réticulo-filamenteuse.

Entre 1921 et 1926 l'attention générale est attirée par la découverte de l'insuline ; mais bientôt une autre découverte non moins remarquable sera faite par les hématologistes américains : le traitement de l'anémie pernicieuse par l'ingestion de foie cru. On oublie généralement que JENEY et JOBLING avaient déjà

expérimenté l'action de diverses substances alimentaires dans cette anémie (1927). Mais la méthode « de Whipple » a une genèse toute différente.

C'est, en effet, le mode de régénération de l'hémoglobine après l'anémie expérimentale par hémorragie que WHIPPLE a étudié tout d'abord. Une première série d'études à ce sujet parut en 1921. Il trouve que cette régénération qualitative est favorisée par l'ingestion de certains aliments, notamment du rein et du foie de mammifères, puis de muscle, de légumes, de certains fruits ; les graisses ne sont pas aussi utiles, et les hydrates de C non plus. Le travail constitue cinq mémoires considérables, publiés par les *Archives of Internal Médecine*.

Bientôt MINOT et MURPHY vont appliquer à la clinique ces constatations de WHIPPLE. Ils observent que « des sujets atteints d'anémie pernicieuse sont très améliorés par un régime riche en protéines totales, surtout en foie et pauvre en graisses ». Quelques mois plus tard ces auteurs sont en mesure de publier des résultats étonnants, véritable résurrection de Biermériens, confirmés par tous les cas traités par cette méthode, dans le monde entier. D'autres anémies telles que les anémies spléniques dont N. FIESSINGER et R. CASTERAN rapportent une observation intéressante, des anémies post-hémorragiques ou post-infectieuses réagissent au traitement dit « de Whipple » qui consiste à faire absorber aux malades de 100 à 300 gr. de foie de veau cru par jour. Dès leurs premières expériences MINOT et MURPHY se servent des courbes de réticulocytes établies journellement pour contrôler les progrès de la régénération des globules rouges. L'augmentation de ces éléments est très marquée du 4^e au 9^e jour après le début du régime : elle précède l'augmentation absolue du chiffre des globules rouges et de l'hémoglobine : une preuve nouvelle qu'il s'agit de globules rouges nouvellement élaborés, peut être jeunes et de formation hâtive et imparfaite. De plus, cette notion vient encore confirmer la théorie de PEABODY qui fut un des premiers auteurs en Amérique à admettre que dans l'anémie pernicieuse type Biermer

l'insuffisance fonctionnelle de la moelle osseuse hématopoïétique joue un rôle prépondérant.

En 1927, COHN arrive à isoler une substance active du foie de veau, extrait alcoolique ne contenant pas de fraction protéinique.

Entre temps, des travaux intéressants sont poursuivis au sujet des réticulocytes : ENGEL les classe suivant 5 groupes en tenant compte de la disposition de la substance réticulo-filamenteuse. JURGENS et SEYFAHRT puis MOLDAWSKY proposent d'ingénieuses techniques pour les mettre en évidence. Il nous est impossible de mentionner ici tous les noms des chercheurs qui ont contribué à l'étude de ces éléments, nous en parlerons aux chapitres Technique, Nature ou Interprétation. Citons cependant les travaux de DAVIDSON (1928) qui combattit la thèse de certains auteurs selon laquelle la substance réticulo-filamenteuse serait un artefact. Enfin, avec le professeur Noël FRIESSINGER nous avons proposé une technique pratique pour la coloration des réticulocytes.

Nous nous proposons ici d'étudier successivement :

Les techniques par lesquelles on peut révéler la substance réticulo-filamenteuse.

La nature de cette substance, au point de vue chimico-physique.

Son origine morphologique, puis l'origine biologique des réticulocytes.

La signification des variations du chiffre réticulocytaire, à l'état normal et dans les maladies.

Nous n'avons point la prétention d'apporter un grand nombre de constatations nouvelles à une question aussi complexe.

Nous désirons simplement exposer les connaissances acquises à l'heure actuelle au sujet des réticulocytes, en espérant que cette mise au point puisse être de quelque utilité.

CHAPITRE II

TECHNIQUES

Avant d'aborder le chapitre des techniques employées pour mettre en évidence la substance réticulo-filamenteuse des hématies, nous exposerons rapidement quelques notions au sujet des colorations vitales en général. « On doit réserver le nom de *coloration vitale* à la coloration qui agit sur les tissus ou les cellules d'un animal vivant et appeler coloration supra ou post vitale l'opération qui consiste à porter un colorant vital au contact d'un tissu extrait d'un animal vivant ». Cette phrase de M. PARAT définit parfaitement le processus. La nature acide ou basique du colorant, l'état de charge électropositive ou électronégative des parois cellulaires et le pH des liquides extra et intracellulaires sont des facteurs très importants dans ce phénomène de coloration. MOLLENDORF, qui a étudié cette question pendant des années admet cependant « qu'il n'est pas de cellule impossible à colorer par les « bons » colorants basiques ». Nous avons résumé en un tableau les données les plus importantes permettant de connaître la formule chimique, le pH et quelques autres caractères des colorants employés pour la coloration du réseau et des granules des réticulocytes.

A. — COLORATIONS VITALES

La première technique qui vient à l'esprit serait donc d'injecter un colorant vital à un animal vivant et d'examiner les éléments figurés du sang à intervalles de temps donnés.

Deux raisons rendent ce processus très difficile :

1° la majorité des colorants vitaux sont toxiques aux doses nécessaires pour colorer les cellules du sang ;

2° les globules rouges des mammifères, annelés, se laissent difficilement pénétrer *in vivo* par des substances chimiques.

Néanmoins quelques expériences ont été faites dans le but d'obtenir des colorations *in vivo* des globules rouges. Nous en citerons trois types.

ARNOLD (1907) introduit dans le sac lymphatique de la grenouille un petit disque en moelle de sureau évidée au centre, et portant un grain de bleu de méthylène. Au bout de quelques heures il retire ce disque. Les globules rouges sont teintés en jaune verdâtre et certains présentent des granules bleus. On peut aussi injecter une solution du colorant dans le péritoine de la grenouille. Mais les résultats obtenus ne sont pas nets.

SAVAS NITTIS (1930) injecte une solution de bleu de méthyle (0,5 cc.) dans le sérum physiologique dans la veine de l'aile du pigeon. Il fait aussi une injection d'héparine, car le sang de cet animal coagule extrêmement vite. Jamais cet auteur n'a pu observer de réticulum ou de granulations dans les globules rouges de l'oiseau ainsi préparé. Si l'on augmente le taux de rouge neutre dans la solution injectée, l'animal meurt même avant que l'on ait pu terminer l'injection intraveineuse si ce taux atteint 10 cc. L'examen des hématies révèle, alors une coloration rosée, mais pas d'éléments réticulo-granuleux nets. Le sang est examiné à l'état frais entre lame et lamelle et avec l'objectif à immersion, comme dans toutes ces expériences.

Nous même avons injecté une solution saturée de bleu crésyl en sérum physiologique dans la veine marginale de l'oreille du lapin, après avoir pincé ou ligaturé cette veine à 1 cm. en aval et à 1 cm. en amont du lieu d'injection. Puis nous avons examiné entre lame et lamelle une goutte du sang compris dans ce « sac veineux », de dix en dix minutes pendant une heure. Les noyaux de certains leucocytes avaient pris après trente minutes une teinte légèrement bleutée. Mais jamais les héma-

ties n'ont présenté les moindres filaments ou granulations colorées.

B. — *COLORATIONS SUPRAVITALES*

On a donc dû remplacer ces colorations vitales proprement dites par des colorations supra ou postvitales, dont CAPPEL a très bien défini le processus en disant que « le colorant imprègne les cellules après leur mort somatique et avant leur mort cellulaire ».

Le Professeur WIDAL avec P. ABRAMI et M. BRULÉ se servait d'une technique où le sang était mis en contact avec une solution colorante et un anticoagulant. On examinait les globules après centrifugation de quelques minutes. La solution colorante était ainsi constituée :

Solution de NaCl à 9 ‰	1 cmc.
Solution d'oxalate de K à 10 ‰	1 cmc.
Bleu polychrome de Unna.....	X gouttes

La substance réticulo-filamenteuse apparaît en bleu sur le fond jaune verdâtre des hématies. Nous reviendrons en détail plus loin, en un chapitre spécial, sur l'aspect de cette substance suivant les divers colorants employés. La méthode de Widal, nécessite une prise de sang veineux au pli du coude, d'au moins 1 à 2 cmc. et une centrifugation, opérations parfois impossibles à effectuer. De plus, la centrifugation peut abîmer des hématies fragiles. Certains auteurs italiens se sont servis d'une technique rappelant celle que BIZZOZERO employait pour la numération des plaquettes : dans un verre de montre on prépare une solution à saturation d'un colorant basique (bleu crésyl, ou rouge neutre ou bleu de toluidine ou azur I), on ajoute 1 goutte d'une solution d'oxalate de K à 2 ‰. On prélève par piqûre du doigt une goutte de sang que l'on reçoit dans la solution colorée. Après 10 ou 15 minutes on dispose une gouttelette de ce mélange entre lame et lamelle ; on examinera la préparation à l'objectif à immersion.

Une technique très pratique est celle qu'employaient ROSIN et BIBERGEIL dans leurs études si intéressantes au sujet des colorations postvitales du sang : on fait une solution à saturation du colorant dans l'alcool absolu. On met une goutte de cette solution sur une lame porte-objet, on laisse évaporer l'alcool. Il se forme une tache de poudre de colorant, pellicule infiniment mince. C'est sur cette tache que l'on reçoit la goutte de sang. Afin d'empêcher l'évaporation, on transporte rapidement la lame dans une chambre humide, ou bien on recouvre de suite avec une lamelle. On peut alors suivre au microscope l'évolution de la coloration. L'inconvénient de cette méthode, très employée depuis 30 ans, est que, même en lutant la lamelle sur la lame au moyen de paraffine, les préparations ne se conservent pas plus de 12 à 20 heures. Les hématies deviennent crénelées, se dissolvent. Nous verrons plus loin qu'après 2 jours on peut voir le réticulum, pâli et réfringent nageant seul parmi des globules rouges en voie de sénescence. Dans l'étude de KEY ces aspects sont admirablement décrits, ainsi que par HEATH et DALAND. On a donc pensé à étaler la préparation quand la coloration avait atteint son optimum. MM. Noël FIESSINGER et P. ABRAMI parvenaient à conserver assez longtemps des préparations simplement étalées et séchées à l'air. SEYFAHRT et JURGENS craignant d'abîmer leurs préparations par le contact de la lamelle, reçoivent une goutte de sang sur une lame recouverte comme précédemment d'une mince pellicule de colorant sec. Ils portent rapidement cette lame chargée dans une chambre humide. Une simple boîte de Petri, garnie d'un buvard humide suffit. Au bout de 10 minutes ils retirent la préparation et la laissent sécher à l'air, parfois après étalement si la goutte est trop épaisse.

Nous proposons une *technique personnelle* qui permet d'obtenir un pourcentage très satisfaisant de réticulocytes, et une conservation indéfinie des préparations. Elle peut s'effectuer avec tous les colorants, dont une goutte de solution alcoolique à saturation est disposée sur une lame ; on la laisse s'évaporer naturellement. Disons que la propreté des lames doit être rigoureuse ; de plus,

l'eau dans laquelle on les a lavées doit être exempte d'acide. Nous lavons nos lames dans une eau savonneuse tiède, rinçons à l'eau ordinaire ou même encore une fois à l'eau distillée. Il faut essuyer chaque lame séparément avec un chiffon de toile propre ; le coton laisse souvent adhérer des fibres gênantes. On conservera les lames dans un bocal contenant de l'alcool absolu, ou de l'alcool à 90, mais non point de l'alcool dénaturé. On ajoutera une goutte de lessive de soude pour 250 cmc. d'alcool environ.

La goutte de solution alcoolique du colorant doit être assez petite, autrement elle ne se localise pas à une extrémité de la lame. On peut préparer plusieurs lames d'avance. D'autre part, comme chambre humide, nous nous servons d'une grande boîte de Petri ; un buvard humecté d'eau ordinaire en garnit le fond. Une petite grille en fil de fer est disposée sur ce buvard pour éviter le contact entre les lames et le buvard imprégné d'eau. Si ce buvard est trop mouillé, l'eau en s'évaporant forme des gouttelettes sur la face interne du couvercle, et peut retomber sur les préparations. On obtient très facilement le degré d'humidité avec un peu d'expérience.

La goutte de sang (par piqûre du doigt) déposée sur la tache de colorant sec est recouverte d'une lamelle, le tout est rapidement posé dans la chambre humide. Au bout de 5 à 7 minutes on soulèvera la lamelle à 45° environ, très doucement une ou deux fois. On remettra encore la préparation pendant 7 minutes au moins dans la chambre humide. Cette opération effectuée à mi-temps de la préparation permet d'obtenir une sorte de brassage des cellules colorées. Leur distribution sera très régulière, celles du centre seront aussi bien colorées que celles de la périphérie. Enfin, on étalera la préparation, et on séchera au plus vite, par exemple en soufflant avec une poire. Ne jamais sécher à la chaleur, ni à l'étuve. Si l'on veut conserver les préparations on peut les fixer, en les présentant au goulot d'un flacon contenant une solution aqueuse d'acide osmique à 1 %. Nous avons conservé pendant 2 ans des lames ainsi traitées, à l'abri de l'air et de la lumière. Elles ont à peine pâli. Le baume de Canada les abîme, même celles fixées aux vapeurs osmiques. Il ne nous

semble pas utile de surcolorer ces préparations, car le colorant que nous proposons pour la technique courante, et que nous appelons « violet vital » colore suffisamment le fond des hématies pour voir s'y détacher la substance réticulo-filamenteuse. Nous verrons plus loin que les bleus basiques employés seuls laissent souvent le globule rouge non coloré, sous forme d'un disque jaune très pâle ou verdâtre. Cet aspect est gênant pour la numération des réticulocytes. CUNNINGHAM avait proposé, en 1915, de surcolorer les préparations au Giemsa ; SEYFAHRT et JURGENS recommandent aussi de fixer à l'alcool les préparations vitales, 24 heures après l'étalement et de surcolorer par un triacide. Nous n'avons pas trouvé que cette méthode ait des avantages sensibles. Certes, on distingue mieux les leucocytes et surtout les petits lymphos qui présentent parfois un réseau bleu avec les bleus basiques ; de même, les hématies apparaissent en rose. Mais la substance réticulo-filamenteuse pâlit sous l'action de l'alcool qui entre dans la composition des éosinates usuels, type GIEMSA, LEISHMAN ou TRIBONDEAU. Il suffit de laver à l'alcool à 100 une préparation supravitale séchée, et même fixée aux vapeurs d'acide osmique, pour voir la substance réticulo-filamenteuse perdre complètement sa coloration. C'est surtout par la composition et la nature du colorant dont est recouverte la lame *a priori* que se distinguent les techniques proposées par les différents auteurs. Ces colorants ont un seul caractère commun : ils sont tous de *réaction basique*. On pouvait s'attendre à ce que cette basophilie de la substance réticulo-filamenteuse puisse contribuer à nous renseigner sur son origine, nucléaire ou plasmatique. Nous verrons bientôt que cette question est bien plus complexe qu'on ne le croit.

C. — TECHNIQUES HÉMOLYTIQUES

Les colorations hémolytiques reposent sur un tout autre principe que les colorations vitales.

Le fait qu'elles révèlent sous une forme particulière la subs-

tance réticulo-filamenteuse a été découvert par MM. CHAUFFARD et Noël FIESSINGER en 1907. Ces auteurs cherchaient alors à vérifier si les hématies extrêmement fragiles de l'ictère hémolytique étaient lésées dans leur morphologie ou dans leurs réactions chromatiques. Ils employèrent comme colorant le réactif de Pappenheim peu usité en France à cette époque, mais dont l'un d'eux se servait couramment pour étudier la biologie des monocytes. Nous empruntons au texte de leur communication le passage suivant :

« Le réactif de Pappenheim est formé d'un mélange à parties égales de deux solutions aqueuses saturées l'une de pyronine, l'autre de vert de méthyle. La solution doit être préparée depuis quelques jours et filtrée au moment de s'en servir. Elle est d'un bleu violet et son Δ que nous avons déterminé est de — 1,58. »

Pour l'emploi de ce réactif, le sang doit être étalé en couche mince et régulière, séché rapidement et *non fixé*, la fixation... supprimant les affinités colorantes du réactif.

L'hémoglobine étant dissoute, le globule rouge perd sa réfringence, et apparaît comme un corps circulaire à bords nets, avec une couleur légèrement grisâtre. Au sujet des hématies granuleuses, les auteurs disent qu' « elles conservent en général leur forme circulaire ; elles semblent volumineuses, tuméfiées. Ce qui les différencie des globules rouges normaux, c'est l'existence d'abord à leur périphérie, puis dans toute leur étendue de fines granulations colorées en rouge vif et formant un pointillé parfaitement visible si l'on emploie 1/18 Stiasnie avec un oculaire 6. » Nous reproduisons ci-contre la figure qui accompagne cette description.

Des pourcentages comparatifs dans de très nombreuses observations leur permirent de conclure que les hématies granuleuses révélées par le Pappenheim et les hématies réticulo-filamenteuses révélées par la coloration supra vitale représentent deux aspects différents d'un même phénomène. Nous verrons par la suite que cette découverte eut une portée considérable dans l'étude biologique du globule rouge.

Il existe deux variantes de la coloration hémolytique. BIFFI

propose en 1908 une technique qui consiste à mettre en contact le sang étalé sur lame et séché avec quelques centimètres cubes de la solution suivante :

Bleu de méthyle	3 gr.
Tétraborate de soude.....	5 gr.
Eau distillée	100 cmc.

Après 5 minutes de contact on lave à l'eau et montée dans de la vaseline iodée. L'hémoglobine quitte la cellule : celle-ci



FIG. 1. — Préparation hémolytique.
Technique de CHAUFFARD et N. FIESSINGER.

devient boursouflée, mais les granulations bleues, sont plus massives qu'avec le réactif de Pappenheim. D'ailleurs un aspect très voisin est obtenu en traitant des étalements séchés à l'air et non fixés par une solution aqueuse de bleu basique quelconque à n'importe quelle concentration. Il faut filtrer ces solu-

tions aqueuses avant l'emploi, car des parcelles de colorant non dissout peuvent gêner l'examen. Enfin VALTER préconise sa technique personnelle qu'il appelle « méthode de la goutte fraîche hémolysée ». Le sang, recueilli par piqûre du doigt est mélangé dans une pipette avec une solution aqueuse de bleu de toluidine. Le mélange est d'une partie de sang pour deux parties de solution. On place une goutte du mélange sur une lame propre et sèche, on recouvre d'une lamelle et on sertit à la paraffine. Regarder les préparations à l'objectif à immersion en employant la lumière artificielle et le diaphragme à demi-fermé. L'auteur a ainsi observé un réseau bleuté dans les hématies granulo-filamenteuses, qui ressort en relief, une sorte de piqueté bleu. Les hématies normales apparaissent comme toujours, sous l'aspect de disques pâles à contour gris très net.

Enfin, on peut encore, dans un but purement expérimental, traiter par l'eau distillée une préparation supra vitale, c'est-à-dire où la substance granulo-filamenteuse a été révélée par du bleu basique mis en contact avec du sang frais. L'hémolyse se produit, et l'on voit que le réticulum reste intact après le départ de l'hémoglobine, sans se boursoufler, sans changer d'aspect. Nous discuterons plus loin les interprétations que l'on peut donner de ces divers phénomènes.

D. — *NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES*

La numération des réticulocytes est fort simple quand on se sert d'un objectif numérateur.

Dans celui-ci un fin réseau formant de petits rectangles permet de compter les globules rouges ordinaires et les réticulocytes. Il faut compter environ mille éléments ce qui correspond à 10 ou 12 champs environ. Une règle de trois permet d'obtenir le pourcentage des réticulocytes. On ne tient pas compte des leucocytes dont les noyaux sont toujours bien colorés et qui se distinguent parfaitement des hématies.

CHAPITRE III

NATURE DES RÉTICULOCYTES

C'est à dessein que nous avons laissé de côté jusque-là l'aspect que revêt la substance granulo-filamenteuse au contact des divers colorants. L'étude des réactions colorantes va, en effet, nous permettre de jeter un peu de lumière sur le problème de la nature physico-chimique de cette substance.

Il est extrêmement difficile d'isoler les globules rouges des autres éléments du sang. Divers systèmes de filtration ont été proposés : on opérât sur du sang oxalaté ou citraté, c'est-à-dire rendu incoagulable par l'addition de quelques gouttes d'une solution de citrate de Na ou d'oxalate de K. Mais en examinant des étalements du filtrat nous y avons toujours retrouvé des leucocytes et des plaquettes. Le lavage des globules par centrifugation avec du sérum physiologique les débarrasse bien du plasma ou du sérum, mais on ne peut savoir exactement dans quelle mesure ce lavage est complet. Toutes ces difficultés techniques empêchent d'obtenir des globules rouges purs, encore moins d'isoler les réticulocytes. On sait, depuis les travaux de KEY (1921), que les réticulocytes sont plus légers que les hématies ordinaires. Nous avons vu, comme cet auteur, que si on laisse reposer un tube contenant du sang oxalaté riche en réticulocytes, ces éléments se rassemblent à la partie supérieure de la couche rouge, au-dessous du tapis leucocytaire. Après 4 ou 5 heures le pourcentage y est fort élevé, 10 fois plus qu'au fond du tube ; mais ces couches supérieures ne sont pas cependant un tapis homogène de réticulocytes purs. On ne peut éviter de recueillir des glo-

bules rouges normaux en même temps. Nous n'avons donc point eu l'occasion de pouvoir faire un extrait de réticulocytes pour y doser certains constituants chimiques.

Nous avons dû nous adresser à l'étude *morphologique* du réticulocyte, révélée par les diverses colorations postvitalles et hémolytiques pour étudier sa nature. Cette étude nous permettra ensuite d'envisager, sous un jour nouveau, l'origine et la signification *biologique* du stade granulo-filamenteux des hématies. L'ordre dans lequel nous étudions les divers colorants « vitaux » est arbitraire.

La substance granulo-filamenteuse apparaît d'abord dans les réticulocytes sous forme de petits grains, quel que soit le colorant basique employé, dans la technique supravitale entre lame et lamelle. Ces petits grains, fins comme des poussières, sont immobiles ; jamais ils ne sont animés de mouvements browniens. Au bout de quelques minutes ces grains grossissent et s'allongent ; ils ressemblent bientôt à des bâtonnets extrêmement ténus. En faisant varier le point, on en aperçoit sur plusieurs plans au sein même du globule rouge. On n'a jamais l'impression qu'il s'agit d'une structure de surface, mais bien d'une sorte d'échafaudage dans l'espace. Progressivement, les bâtonnets deviennent des brindilles, et l'abondance de ces brindilles donne à leur ensemble un aspect enchevêtré. Des granulations assez rondes persistent entre les brins, mais ne se voient pas électivement à leurs points de jonction ou de croisement. L'abondance du réticulum a donné lieu à diverses classifications des réticulocytes. On a décrit (DAVIDSON) un aspect en couronne de mousse ; une forme en pelote de fil ; en passoire. Nous reparlerons d'ailleurs en détail des classifications proposées par ENGEL, par SEYFAHRT et JURGENS et par SCHILLING-TORGAU.

Nous allons passer maintenant à l'aspect obtenu par les colorants vitaux, puis nous exposerons les faits et les théories qui ont été établis pour expliquer le mécanisme physico-chimique de ces colorations.

AFFINITÉS COLORANTES

Bleu de méthylène. — C'est un chlorhydrate de trétraniyl-l-lyle-thionine. C'est moyennant ce colorant fortement basique qu'EHRLICH découvrit des « réseaux fins et élégants » dans les hématies d'un anémique. Quelle que soit, en effet, la technique suivant laquelle les hématies sont mises en contact avec ce colorant, on obtient des images de filaments bleu clair, ténus et arachnéens extrêmement nets. Mais, comme le fait très judicieusement remarquer DAVIDSON, on n'observe que rarement la forme en couronne de mousse. De plus, les granulations qui parsèment le réseau avec d'autres colorants se distinguent moins bien avec le bleu de méthylène. Après 15 minutes de contact, la coloration atteint son maximum. Les hématies apparaissent comme des disques (ou sphérules) vert jaunâtres. Les granulations des leucocytes basophiles, les noyaux des polynucléaires et des lymphocytes sont teintés de bleu franc. Les noyaux des normoblastes sont aussi teintés en bleu. En opérant sur du sang de pigeons nous avons vu que le noyau des globules rouges n'a pas de rapport constant avec la substance réticulo-filamenteuse. Toutes les hématies d'oiseaux présentaient un beau noyau bleu, et quelques-unes seulement un réseau de substance réticulo-filamenteuse. Quoique les images obtenues avec le bleu de méthylène ne soient pas aussi belles qu'avec d'autres colorants dits vitaux, son emploi nous a été précieux. Nous verrons plus loin que, suivant les travaux de O. WARBURG, ce bleu est fixé par les cellules sous forme d'une leucobase incolore, laquelle ne reprend sa couleur initiale qu'en présence d'oxygène. Nous avons donc cherché à déterminer le rôle des oxydations dans les processus de coloration postvitale.

Bleu de toluidine (chlorzincate de diméthyl tolu-thionine). — Ce bleu est plus pratique pour l'usage courant. Si on le met en contact avec du sang oxalaté par exemple, ou simplement entre lame et lamelle avec du sang pur, on obtient des aspects

très nets en 15 à 20 minutes. Le fond des hématies est bleu ardoisé, certaines sont bleu-gris clair. Un réseau ultra-marine, parsemé de granulations très fines caractérise les réticulocytes. Les filaments peuvent s'intriquer, et revêtir l'aspect en couronne de mousse. Là, où la substance granulo-filamenteuse est peu abondante, on voit cependant des points ou segments de fils bleu foncé nets. Sur les préparations humides le corps des hématies est parfois trop foncé, mais lorsqu'on étale ces préparations les séchant très vite et les fixant aux vapeurs d'acide osmique, on obtient des lames qui se conservent admirablement. C'est à peine si elles pâlisent légèrement même si on les laisse sur la table du laboratoire, à la lumière. Dans la même série de colorants nous trouvons l'azur I et l'azur II.

Avec ces 2 azurs, le réticulum devient bleu mauve. L'azur II est précieux car il révèle passagèrement l'existence de granulations métachromatiques, dont nous emprunterons la description à DAVIDSON.

« Ce sont des particules rondes et réfringentes, à reflet rouge, au nombre de 1 à 8 dans une cellule. Pour une raison indéterminée on ne les voit pas dans toutes les préparations, et on connaît imparfaitement leur nature. On les retrouve aussi bien dans les réticulocytes possédant une grande quantité de substance basophile que dans celles ne contenant que des traces du réticulum... La couleur rouge s'évanouit graduellement et devient bleue, si bien qu'après quelques heures on ne peut plus distinguer ces granulations métachromatiques de la substance réticulée. » KEY les étudia également.

Le colorant de choix, agissant très vite et peu toxique pour les cellules, que l'on peut observer pendant 48 heures en préparations humides lutées est le bleu crésyl brillant.

Bleu crésyl brillant. — Le fond des hématies reste incolore, mais la substance granulo-filamenteuse apparaît très caractéristique. Des grains très nets semblent pris dans les branchages bleus formés par le réticulum. Parfois, lorsqu'il est peu abondant, des granulations éparses se voient dans certaines hématies. La numération serait facilitée si le fond des globules rouges était

teinté. C'est pourquoi nous lui avons adjoint le rouge neutre.

Rouge neutre. — Ce colorant fut très employé pour toutes sortes de colorations vitales et postvitales. Il présente des affinités pour certaines graisses phosphorées du groupe des lécithines. LEVADITI s'en servait dès 1901 pour étudier les caractères des myélocytes. ROSIN et BIBERGEIL le recommandent aussi et donnent une excellente description « des points et sortes d'arabesques » que dessine la substance granulo-filamenteuse dans les hématies à son contact. Il a l'avantage de colorer le fond des hématies en rose pâle ou rose saumon. Certaines hématies présentent une coloration très foncée ; elles sont souvent de petite taille, et ce fond coloré fortement gêne la recherche de la substance granulo-filamenteuse que l'on souhaiterait bleue, dans cette circonstance.

Nous avons donc fait un mélange de :

2 parties de bleu crésyl brillant en poudre

1 partie de rouge neutre en poudre.

Une solution dans l'alcool absolu (à saturation) de ce mélange représente notre *violet vital*. On peut en faire sécher une goutte sur des lames et les conserver à l'abri de la poussière, prêtes à l'emploi. Si l'on veut suivre l'évolution de la coloration, on peut mélanger une trace de cette poudre d'aspect violet à quelques gouttes d'une solution d'oxalate de K. dans un verre de montre et y laisser tomber quelques gouttes de sang.

L'aspect des préparations, au bout de 10 à 15 minutes est le suivant :

Fond des hématies coloré en jaune orangé ou rose pâle.

Substance granulo-filamenteuse mauve bleu très foncé, parfois ardoisé. Quelquefois, des hématies isolées sont pourpres ou mauve ardoise, mais toujours la substance réticulo-filamenteuse est nettement visible, si peu qu'il y en ait. Les leucocytes présentent des noyaux très légèrement teintés. Les lymphocytes se reconnaissent par un curieux réseau mauve qui parcourt leur protoplasma.

Très fréquemment les histologistes se sont servis d'un mélange de rouge neutre et de vert janus, tels que SABIN et DOAN dans leurs travaux remarquables sur les colorations postvitales des leucocytes.

Le Vert janus est un diéthyle-safranine-azodiméthyl-aniline. Il se présente sous forme de poudre bleue à reflets verts et sa toxicité plus marquée que celle des colorants précités peut être attribuable à son groupe d'*aniline*. Il agit surtout très bien à très faible concentration (1/5 000^e) si on veut l'employer en solution oxalatée. La marque HOECHST est la seule dont la composition du Vert janus soit constante.

Il colore le réticulum en bleu verdâtre. Mais il présente un intérêt tout particulier car il a permis à KEY d'élucider définitivement la question des mitrochondries voir substance granulo-filamenteuse.

Enfin, comme le montre la planche VI, on peut effectuer une coloration supravitale avec n'importe quel bleu basique, sécher et fixer ensuite pendant 10 minutes à l'alcool méthylique. Laver et sécher ; puis surcolorer par un bleu de Loeffler pendant 10 à 12 minutes. Laver pendant au moins 5 minutes à l'eau courante. Cette technique permet de mettre en évidence en même temps les réticulocytes et les érythrocytes ponctués.

La façon de préparer le bleu de Loeffler varie suivant différents auteurs ; la méthode de NEUMANN donne des résultats excellents. Voici la formule :

Faire une solution à saturation de bleu de méthylène dans 30 cmc. d'alcool absolu.

Décanter et verser dans le mélange suivant :

Eau distillée	100 cmc.
Lessive de soude à 1 % ..	1 cmc.

Agiter et conserver dans un flacon bouché à l'émeri.

Nous allons nous en tenir aux colorants énumérés ci-dessus dans la liste des révélateurs de réticulocytes. Disons seulement que le vert de méthyle ne les colore pas, non plus que les Soudan,

variété B, BX et III. Le violet de thionine ne nous a pas donné de résultats constants.

NATURE CHIMIQUE

Nous aborderons l'étude de la nature biologique de la substance granulo-filamenteuse en considérant un peu plus longuement le mécanisme et l'aspect des colorations dites hémolytiques.

On sait que la technique classique consiste à étendre sur une lame de sang séchée et non fixée, une goutte faite en mélangeant à parties égales les deux solutions suivantes (PAPPENHEIM) :

Solution saturée aqueuse de pyronine	{	âa
Solution saturée aqueuse de vert de méthyle		

L'hémoglobine est chassée du globule rouge par la présence de l'eau. La membrane et le stroma de l'hématie restent, et se voient sous forme de disques pâles, dont on ne voit plus que le contour au bout de quelques minutes. La substance réticulocytaire apparaît sous forme de fines granulations roses à reflets verts. Le globule rouge ainsi granuleux semble gonflé, boursoufflé, plus gros que ses voisins normaux. Mais jamais la substance granulo-filamenteuse ne revêt ici la forme de fils ou de grains !

Traitions par le mélange de Pappenheim l'étalement séché et non fixé d'une préparation colorée par la technique postvitale : La substance réticulaire y est déjà mise en évidence sous forme de grains et de filaments. Malgré la présence d'eau et de 2 colorants en solution, la substance granulo-filamenteuse va conserver immuablement la forme sous laquelle elle est apparue une première fois au contact d'un colorant basique. Et jamais, sur ces préparations à « méthode double » on ne verra apparaître l'aspect classique, poussiéreux des préparations dites « hémolytiques ».

Nous avons déjà cité souvent les travaux de N. FIESSINGER et PEIGNEZ qui ont comparé le chiffre des réticulocytes mis en évi-

dence par les colorations vitales et par les colorations post-hémolytiques chez le même sujet et les ont trouvés absolument superposables.

Puisque les fixateurs empêchent la mise en évidence de la substance granulo-filamenteuse sur les préparations hémolytiques, nous avons pensé que l'alcool, qui est le fixateur de choix en hématologie, dissolvait peut-être cette substance. Nous avons donc expérimenté l'action d'autres solvants employés couramment : l'alcool-éther, l'éther, le chloroforme et l'acétone. Nous avons été surpris de constater que si l'on traite un étalement de sang simplement séché par l'acétone pur pendant 2 à 5 minutes on peut ensuite obtenir l'aspect « hémolysé-granuleux » par le réactif de Pappenheim. De nombreuses préparations effectuées ainsi nous ont permis de nous assurer de la constance de ce phénomène. Nous avons dû conclure que l'acétone est sans action sur la substance granulo-filamenteuse des réticulocytes. Or, il existe une famille chimique de corps qui présentent un gonflement de leurs micelles au contact de l'eau, qui sont dissous par l'alcool, l'éther, le chloroforme et non dissous par l'acétone. Ce sont des lipoides phosphorés, les lécithines, auxquelles appartient notamment la céphaline.

Est-ce que la substance réticulaire des hématies ne pourrait être de composition voisine des lécithines ?

Déjà en 1910 PAPPENHEIM, se basant sur des considérations tout à fait différentes des nôtres avait formulé cette hypothèse. Il voulait défendre sa théorie sur l'origine protoplasmique de la substance granulo-filamenteuse. Il rappelle les travaux de LORAIN, et SMITH qui ont montré que les couleurs basiques métachromatiques, telles que le bleu crésyl, la thionine, la toluidine et le bleu Nil, se fixent électivement sur les graisses de nature acide (lécithines) qu'elles colorent en bleu, et que les graisses neutres prennent à leur contact une teinte métachromatique. D'autre part, POGGI et VASSALE ont montré que « la substance réticulaire qui se colore au contact de bleu de méthylène est identique à celle qui se colore en rouge brun par le rouge neutre, et que cette substance... est un acide gras qui

forme avec la base du colorant un sel monoacide. » PAPPENHEIM, après avoir confirmé ces opinions, dit encore que « ce spongioplasma basophile des jeunes hématies est très probablement un « albumine-lécithide de nature lipoidique ». Il est incontestable que la lécithine se trouve en grande quantité dans les cellules jeunes, embryonnaires. C'est elle qui incarne la majorité des combinaisons du phosphore si abondantes dans les tissus en voie de croissance.

Nous avons dû renoncer, à cause de difficultés techniques résultant de l'impossibilité d'obtenir un isolement parfait des réticulocytes, à doser les graisses phosphorées, ou même le phosphore organique etc. dans les globules rouges. Dans des travaux ultérieurs nous espérons pouvoir nous approcher de la solution de ce problème. Quelle que soit la composition exacte au point de vue chimique, de la substance granulo-filamenteuse nous allons maintenant chercher à savoir quelle est sa position dans le globule rouge.

Laissant de côté les affirmations de COOKE, qui n'admet pas que le globule rouge ait une membrane propre, nous nous rallions à la théorie classique qui admet que la composition du globule rouge soit la suivante : une coque ou membrane, un stroma ou charpente de soutien, un contenu liquide, ou hémoglobine. Nous discuterons plus loin le problème de la disparition du noyau des hématies adultes des mammifères. Pour l'instant, attachons-nous au problème suivant : la substance granulo-filamenteuse est-elle une structure de surface (peut-être alors un artefact ?) ou bien représente-t-elle une sorte de charpente véritable au sein de l'hématie ?

C'est l'étude du mécanisme de la coloration postvitale qui va nous permettre de résoudre la question.

D'abord, le colorant entre-t-il dans la cellule ? C'est la loi d'OVERTON qui nous renseignera sur les conditions requises pour les colorations intracellulaires. « La perméabilité de la cellule pour certains colorants est liée à la solubilité de ces colorants dans les lipoides de la membrane cellulaire. »

Nous retiendrons surtout la notion de la solubilité des colo-

rants dans les lipoides. Car on a étudié les réactions des membranes cellulaires depuis le temps où OVERTON énonçait cette loi. On a acquis la certitude, aujourd'hui, que les membranes cellulaires n'obéissent pas exactement aux lois physico-chimiques de l'osmose mais à des lois biologiques très différentes

Si nous admettons donc que les colorants se fixent sur des lipoides, deux conceptions peuvent être mises en présence :

- 1° Les lipoides dessinent un réseau à la surface de l'hématie.
- 2° Les lipoides sont au sein même de l'hématie.

Si la première hypothèse était exacte, il faudrait trouver les granulations et filaments du réticulocyte sur deux plans, dans les préparations humides : l'un représentant la face supérieure de l'hématie et l'autre sa face postérieure ; de plus le contour serait irrégulier.

Or, lorsqu'on examine une préparation fraîche colorée par exemple avec du « violet vital », entre lame et lamelle, on aperçoit d'abord la substance granulo-filamenteuse disséminée sur un plan ; souvent on ne voit que quelques grains avec l'amorce de fils qui deviennent flous vers la profondeur. En changeant le point, on aperçoit la suite des filaments et d'autres granulations apparaissent, tandis que l'on ne voit plus ceux de la couche supérieure. On peut observer ainsi 4 ou 5 plans, surtout si on se sert d'un objectif à immersion $1/18^e$ et d'un oculaire 6 ou 8 compensateur. Pendant tout cet examen, les bords de l'hématie sont lisses, nets ; on n'a même pas l'impression que la substance granulo-filamenteuse soit fixée à la face interne de la coque du globule rouge. Les préparations hémolytiques conservent-elles aussi un contour net ; les grosses granulations glauques, qui rappellent un amas de frai de genouille, ne font jamais saillie à la surface de l'hématie. Enfin, les expériences rapportées par KEY sont encore plus concluantes : cet auteur a vu dans des préparations hémolysées le réticulum persister non seulement dans les « ombres » des globules rouges laqués, mais il l'a observé « flottant librement dans le milieu ambiant », ayant quitté l'hématie.

Nous admettons donc que la substance granulo-filamenteuse

se trouve dans le globule rouge, et non à sa superficie ; et qu'elle est de nature lipoïde. Mais quelle est sa distribution réelle dans la cellule ? C'est que la forme qu'elle revêt après les colorations postvitales et la forme sous laquelle elle se présente après traitement au colorant de Pappenheim sont extrêmement différentes.

La façon de se rendre compte du mécanisme de ces colorations, la meilleure, consiste à traiter des lames de sang séché par des solutions de bleu basique en sérum hypo-iso ou hypertoniques. DAVIDSON résume les expériences qui ont été faites à ce sujet dans son mémoire publié par *Le Sang* en 1931. Il a noté que les réticulocytes résistent longtemps au laquage par des solutions non isotoniques, et a vu les aspects de transition entre les granulations bleues observées dans les colorations vitales et les granulations boursoufflées, pâles, observées avec les techniques hémolytiques. D'autre part, si on traite par le Pappenheim (ou par l'eau distillée) un étalement de sang où l'on a mis en évidence antérieurement la substance granulo-filamenteuse on voit les hématies devenir graduellement pâles, transparentes par suite de l'hémolyse. Mais la substance granulo-filamenteuse reste intacte, telle qu'elle se présentait par la coloration vitale. Nous ne pourrions mieux faire que de citer DAVIDSON.

« Une fois le réticulum apparu il tend à réster sous cette forme, sans souci des manipulations ultérieures. Par exemple après l'introduction d'une solution acétique à 5 % sous une lamelle recouvrant une lame sèche colorée au bleu crésyl à 3 % où le réticulum a l'aspect d'une couronne de mousse, on voit que la forme et la quantité de celui-ci restent sans changement bien que la cellule soit laquée. Par l'action de l'acide la couleur vire, on la voit passer du jaune au rouge puis s'évanouir, laissant le réticulum comme une substance réfringente, brillante, qui peut se voir nettement 24 heures plus tard. A tout moment il peut se recolorer au bleu de méthylène, et sa structure est la même qu'au début. D'une façon semblable sur une préparation liquide, temporaire observée, après 24 heures, on peut voir beaucoup de réticulocytes en voie de laquage. La structure cellulaire peut avoir

complètement disparu, mais la substance réticulée reste sous sa forme première. »

La « solidité » de la substance granulo-filamenteuse est encore démontrée par les expériences de KITAJIMA. Cet auteur lave rapidement à l'alcool des préparations vitales obtenues par le rouge neutre + bleu crésyl, séchées. Puis il les surcolore par du Giemsa. Les granulations et filaments qui avaient pâli, puis disparu sous l'action de l'alcool se colorent en bleu par le Giemsa. Nous n'avons pu confirmer ces expériences avec du Tribondeau, mais il est d'autres faits, très démonstratifs rapportés par SAVAS NITTIS. Cet auteur lave une partie du sang riche en réticulocytes (mis en évidence en mélangeant du sang frais avec une solution anticoagulante additionnée de bleu crésyl) en le faisant centrifuger avec son propre sérum. Il put recolorer ensuite les globules où toute substance granulo-filamenteuse était devenue invisible par suite du lavage. Il recommença jusqu'à sept fois le lavage et la recoloration de la substance granulo-filamenteuse. Il appelle ce phénomène « hygrochrose ». Mais une condition semble nécessaire pour obtenir ce phénomène : c'est que les globules rouges restent en contact avec leur propre sérum ou qu'au moins 50 % du liquide de lavage soit leur sérum. Avec des solutions salines isotoniques les résultats sont mauvais : il y a agglutination des hématies au contact de la substance colorante. L'auteur conclut que la « vitalité » des érythrocytes n'est pas une condition essentielle de la coloration dite vitale. Nous rappellerons, cependant, que si le colorant a fait prendre une forme déterminée au réticulum, s'il l'a pour ainsi dire cristallisé en un aspect déterminé, il semble assez naturel que la recoloration après lavage provoque la fixation du colorant sur le réticulum tel qu'il a apparu pour la première fois.

Lorsque le réticulum a été mis en évidence par la coloration vitale, l'hémolyse ne détermine jamais les aspects dits « hématie granuleuse ». Il s'agit donc de la même substance apparaissant sous deux aspects différents.

Avant d'aborder la question de la signification biologique de la substance granulo-filamenteuse il nous reste à examiner une

autre propriété des réticulocytes : leur comportement vis-à-vis de solution hypo ou hypertonique. Sont-ils plus fragiles ou plus résistants que les globules rouges normaux, adultes ? C'est encore à KEY que nous devons une étude complète de cette question. Cet auteur n'a pas utilisé la même technique que PEPPER et PEET, c'est-à-dire la centrifugation de sang riche en réticulocytes additionné de solutions salines hypo ou hypertoniques : les réticulocytes sont plus légers que les globules rouges normaux et se déposent en couche sous-jacente au tapis leucocytaire. C'est peut-être la raison pour laquelle PEPPER et PEET n'ont pas obtenu de résultats concluants en faveur d'une résistance anormale (en plus ou en moins) de ces éléments. KEY mélangeait du sang oxalaté de lapin riche en réticulocytes (récupération sanguine posthémorragique) avec diverses solutions salines, échelonnées de 0,3 à 1 %. Les proportions étaient 1 partie de sang pour 10 parties de solution. Au bout de quelques heures, il prélevait 1 goutte du mélange contenu dans des tubes à hémolyse et non centrifugé. Il faisait alors des préparations vitales au bleu crésyl entre lame et lamelle, les observant à l'état humide. Lorsque le sang est laqué par l'eau distillée, le réticulum se colore normalement, mais ne présente jamais de granulations métachromatiques. On ne voit pas la forme en couronne de mousse. Mais en laquant le sang au moyen de solutions salées de 0,3 à 6 %, on aperçoit assez souvent un arrangement en cercle de la substance réticulée, plus compacte d'aspect que dans des solutions isotoniques. Si l'on mélange du sang oxalaté avec de l'eau distillée contenant du bleu crésyl, on obtient simultanément une hémolyse et une coloration vitale. On observe alors toutes les transitions entre l'aspect en couronne de mousse et le réticulum fragmenté punctiforme. » L'auteur explique ceci par l'action de deux forces opposées : 1° le colorant qui tend à fixer le réticulum sous forme de réseau ; 2° l'eau qui tend à le laisser en petits fragments ; et cette notion éclaircit également le problème suivant : si l'on fait une réaction de Pappenheim sur du sang coloré vitalement au préalable, l'aspect de la substance granulo-filamenteuse ne change pas et elle n'affecte pas la forme dite « hématie granuleuse ». Il

semble aussi que si, au cours d'une hémolyse spontanée par vieillissement (dessiccation lente, évaporation) d'une préparation humide on fait une coloration vitale, le colorant n'entre pas dans les cellules crénelées, à demi détruites. Les explications proposées de ce phénomène ne semblent pas satisfaisantes. KEY a aussi étudié l'action des solutions hypertoniques, les aspects usuels s'observent. Si l'on fait une coloration postvitale sur du sang mis à l'étuve à 50 pendant 30', on obtient un réticulum normal dans les réticulocytes intacts ; les cellules abîmées légèrement présentent quelques grains colorés, les cellules très crénelées ne prennent pas le colorant du tout. L'auteur conclut que la substance granulo-filamenteuse n'est soluble ni dans l'eau ni dans les solutions de NaCl.

NATURE BIOLOGIQUE DES RÉTICULOCYTES

Après avoir montré que la substance granulo-filamenteuse existe réellement au sein de certains globules rouges, qu'elle n'est ni un artefact ni une structure de surface nous devons nous demander quelle est son origine biologique.

Nous écarterons rapidement la théorie de « charpente cellulaire », sorte de système de poutres de soutènement. Si, en effet, cette charpente venait à se dissoudre, la sphérule que représente l'hématie collaberait sous l'action des pressions extérieures, surtout lorsque l'hémoglobine est sortie après l'hémolyse (par exemple au Pappenheim) même si l'on admet que l'hémoglobine puisse distendre l'hématie par le fait que cette substance se présente sous forme d'un gel, répartie dans des logettes de la cellule, la structure « en pigeonier » ne serait pas l'apanage d'une certaine catégorie d'hématies seulement. Comme le fait très judicieusement remarquer DAVIDSON « quelle que soit l'hypothèse qu'on accepte, il est clair que, puisque la forme de l'érythrocyte est la même au stade immature qu'à l'âge adulte, le même mécanisme de support est en jeu. »

Mais d'où vient la conception que le réticulocyte soit un glo-

bule rouge immature et de formation hâtive et imparfaite ? L'observation de deux phénomènes, l'un d'ordre histologique, l'autre d'ordre biologique sont à la base de cette notion. Nous voulons parler de l'existence d'hématies granuleuses dans la moelle osseuse et de réticulocytes chez l'embryon dans le sang circulant, et enfin des crises réticulocytaires au cours de régénération hématique.

Après avoir découvert les hématies granuleuses en traitant du sang d'ictère hémolytique par le colorant de Pappenheim et démontré leur identité avec les réticulocytes décelés par les colorations vitales, A. CHAUFFARD et N. FIESSINGER ont cherché à reproduire expérimentalement l'hyporésistance hémolytique chez l'animal. Ils ont injecté dans les veines du lapin 4 à 6 gouttes de sérum d'anguilles diluées en solution isotonique. La destruction globulaire fut suivie au 5^e ou 6^e jour d'apparition d'hématies granuleuses pouvant atteindre un taux de 25 %. « L'examen de la moelle osseuse, » disent ces auteurs, « de lapins sacrifiés au cours de la maladie expérimentale ou à son déclin nous a donné les résultats suivants : moelle rouge en réaction évidente avec disparition plus ou moins complète de vésicules adipeuses, présence... de normoblastes et de mégakaryoblastes. Ces éléments rouges sont nettement *granuleux* au Pappenheim. Quand la moelle est en réaction assez forte pour que le tissu adipeux ait disparu et ne soit pas gênant sur les frottis frais desséchés et non fixés, on constate l'existence d'hématies granuleuses très nombreuses, beaucoup plus abondantes que dans le sang. Par expulsion plus ou moins complète du noyau on assiste au passage du normoblaste à l'hématie granuleuse. »

BERCHTHOLD, HAY ont imaginé une autre méthode pour étudier les éléments figurés de la moelle osseuse. Ils ont soigneusement dénudé l'artère nourricière du fémur du chien, et repéré la veine correspondante. Puis ils injectent sous la peau de l'animal une certaine dose d'adrénaline qui provoque une splénocontraction. Ils ont alors analysé le sang tant dans l'artère que dans la veine de l'os. Le taux des réticulocytes augmentait relativement dans le sang artériel, parallèlement au taux des globules

rouges par mmc. ; mais il n'augmentait point de valeur absolue. Le sang veineux présentait au sortir de l'os quelques myélocytes, métamyélocytes et plus de réticulocytes qu'il n'en existait dans le sang périphérique ou veineux avant l'injection d'adrénaline. Les réticulocytes sont donc plus abondants dans les centres hématopoïétiques de la moelle que dans le sang circulant.

Nous-même avons fait apparaître chez le lapin une crise réticulocytaire posthémorragique (saignées de 10 à 15 cmc. deux jours consécutifs). Lorsqu'elle était bien nette (30 % de réticulocytes environ) nous avons anesthésié l'animal et avant de le sacrifier lui avons prélevé de la moelle osseuse tant costale que fémorale. Nous avons fait des préparations supravitales colorées par l'Azur II, le violet vital et par le bleu de méthylène. Des frottis secs non fixés furent traités par le Pappenheim. Enfin des fragments furent posés dans des verres de montre contenant une solution anticoagulante colorée par du bleu thionine. Voici les aspects que nous avons observés :

Présence de très nombreuses hématies nucléées, contenant toutes un réseau basophile, entourant généralement le noyau. La surcoloration au Tribondeau permettait de contrôler la nature et le stade de maturité des cellules.

Les préparations séchées simplement puis traitées par le réactif de Pappenheim présentaient de nombreuses hématies granuleuses. Nous n'avons pas obtenu de bons résultats en laissant s'imbiber des fragments de moelle osseuse de sérum physiologique additionné d'un bleu basique comme le recommande M^{me} ISTOMANOWA (1926). Elle a pu suivre l'aspect médullaire des crises réticulocytaires provoquées chez le lapin par des saignées répétées ou des injections de pyridine. Dès le 2^e jour après la saignée, alors que dans le sang circulant on ne trouve encore que 1 % à 2 % de réticulocytes, la moelle osseuse présente déjà une réaction hématopoïétique nette. Des prélèvements de moelle costale montrent de nombreux normoblastes et mégakoblastes, dont le noyau est entouré ou accompagné d'un réseau de substance basophile (réticulo-filamenteuse aux colorations

vitales) d'autant plus abondant que l'hématie est plus jeune. ISTOMANOWA publie des courbes très démonstratives; elle aurait obtenu de très belles coupes en laissant des fragments de moelle pendant 1 heure dans du sérum physiologique additionné de bleu crésyl, les fixant rapidement à l'alcool ensuite. Inclusions à la celloïdine, puis technique de Maximoff et surcoloration au panchrome.

Il ressort déjà de ces études que les éléments de la série rouge à leur stade immature intra-médullaire présentent à côté du noyau une quantité considérable de substance réticulo-filamenteuse. Nous verrons que l'on rencontre ce phénomène non seulement au cours de régénération sanguine provoquée, mais aussi à l'état physiologique chez l'embryon.

Le travail de SEYFAHRT et JURGENS (1927) au sujet du comportement de la substance granulo-filamenteuse dans les hématies de l'embryon est extrêmement intéressant. Ces auteurs, à la suite de SABIN qui avait déjà noté l'existence de nombreux réticulocytes dans le sang du poulet jusqu'au 3^e jour de développement ont employé la technique suivante :

Ils isolent avec des fines ligatures des embryons de souris au sein même de l'animal mère. Puis ils font des préparations post-vitales avec le sang des embryons. Voici leurs résultats :

Embryons de 3 mm. de long; présence de mégalo blastes à noyau basophile riche en chromatine, entouré d'une épaisse couronne de substance granulo-filamenteuse. Dans les promégalo blastes le protoplasme très basophile est réduit à un croissant étroit, il contient des « masses colorables au bleu basique » sans structure nette.

Même aspect jusqu'à ce que l'embryon dépasse 7 mm. de longueur. Il existe des mégalo blastes à deux noyaux. Les couronnes de substance granulo-filamenteuse qui entourent chaque noyau se confondent au centre. Vers cette époque apparaissent aussi des normo blastes, à noyau plus compact et à protoplasma plus étroit que celui des mégalo blastes. La substance granulo-filamenteuse se présente surtout sous la forme granulaire, il y a peu de filaments. Lorsque l'embryon de souris atteint 9 mm. le noyau de la

plupart des mégalo blastes entre en pyknose. Parfois il est réduit à une sphérule visible au milieu d'une très dense substance granulo-filamenteuse. Le protoplasma des normoblastes commence à se charger légèrement d'hémoglobine, ce qui est nettement visible sur les étalements surcolorés au Giemsa. De belles planches en couleurs sont très démonstratives. Les auteurs décrivent tous les aspects successifs du sang jusqu'à ce que l'embryon ait 24 mm. de long. En résumé, les érythrocytes présentent une substance granulo-filamenteuse d'autant plus abondante et dense qu'ils sont plus jeunes. Le réseau devient plus lâche à mesure que la maturité de l'hématie évolue, bientôt il n'en reste que quelques brindilles, quelques grains, puis elle disparaît complètement. Des tableaux de pourcentages qui accompagnent cet important mémoire permettent une vue d'ensemble du processus très claire. Jamais SEYFAHRT et JURGENS n'ont observé de substance granulo-filamenteuse dans les grandes cellules souches encore complètement indifférenciées.

MAURER et MILEFF ont constaté la diminution progressive des réticulocytes dans le sang périphérique chez le rat blanc depuis la naissance jusqu'à la 10^e semaine. Le taux décroît de 6 % à 0,5 %. SEYFAHRT et JURGENS notent un processus analogue chez les enfants. A la naissance le chiffre des réticulocytes est environ 7 % ; vers la 6^e semaine il est de 0,7 %. MOLDAWSKY a étudié la courbe réticulocytaire chez les prématurés et trouve des taux plus élevés que chez les enfants nés à terme.

N'oublions pas, enfin, que MINOT et MURPHY, alors qu'ils étudiaient les propriétés de divers viandes au point de vue de la régénération sanguine se sont servis constamment des réticulocytes comme critère. Puis WHIPPLE, en expérimentant dans les anémies l'ingestion de foie de veau comme traitement régénérateur a insisté sur l'importance de crise réticulocytaire, précédent de quelques jours l'augmentation du chiffre des globules rouges.

Nous pouvons donc tirer les conclusions suivantes de toutes ces études :

L'hématie contient d'autant plus de substance granulo-filamen-

teuse qu'elle est plus jeune. Dans la moelle, le noyau et la substance réticulo-filamenteuse peuvent coexister dans la même hématie. Chez l'embryon normal et chez le fœtus le taux des réticulocytes est plus élevé dans le sang que chez le nouveau-né, même chez les petits mammifères. La substance réticulo-filamenteuse est un élément normal dans l'hématie immature.

On peut se demander maintenant quel est son rapport avec d'autres éléments qui existent dans les cellules jeunes : le noyau, la chromatine et les mitochondries.

RAPPORT AVEC LE NOYAU ET LA CHROMATINE

On sait, en effet, que tous les globules rouges des mammifères et en particulier de l'homme ont contenu un noyau, alors qu'ils étaient encore immatures dans la moelle. On admet que d'une cellule indifférenciée (peut-être fixe), dérive par maturation un proérythroblaste à chromatine nucléaire lâche et protoplasma basophile. Le noyau se densifie, le protoplasma se charge d'hémoglobine, la cellule devient un normoblaste. Puis le noyau disparaît et l'on est en présence de l'érythrocyte normal. De nombreux travaux ont établi que la génération des mégalo blastes de souche embryonnaire peut être parallèle à celle des globules rouges normaux. Mais elle fournira des mégalo cytes, jamais de normoblastes ou d'érythrocytes ordinaires. Tout récemment le Prof. NAEGELI a encore insisté sur la différence absolue qui existe entre les mégalo blastes et les normoblastes même de gros volume.

La discussion quant à savoir quel est le mécanisme de la disparition du noyau des globules rouges est loin d'être terminée. Elle dure depuis près de cent ans. C'est KOELLIKER qui publia une des premières études à ce sujet en 1846 ; selon lui le noyau disparaît par résorption. RINDFLEISCH, qui se servit d'une autre technique soutient au contraire en 1880 que le noyau quitte l'hématie par expulsion. Mais ISRAEL et PAPPENHEIM montrent en 1893 que si l'on fait une préparation vitale humide au rouge neutre, sur du sang d'embryon et que l'on fasse passer sous la lamelle une goutte

de sérum physiologique isotonique, tous les noyaux quittent précipitamment les hématies au moment du contact avec la solution. Ils montrent par une série d'autres expériences que l'expulsion du noyau est le mode de disparition le moins plausible. Sur leurs très belles planches en couleurs on voit des figures de caryolyse, de caryorhexis, et même des réseaux de substance granulo-filamenteuse que ces auteurs ont décrits sans en donner d'interprétation biologique. PAPPENHEIM se sert de ces arguments pour couper court à une discussion entre divers hématologistes soutenant chacun sa thèse, dont on retrouve les échos fort intéressants dans *Folia Hæmatologica*, 1910. Mais assez récemment (1921) VALENTINE publia un cas d'ictère hémolytique, présentant 1.800.000 gl. r., avec 65 % de réticulocytes et 78 normoblastes pour 100 gl. bl. Il surcolora des préparations vitales séchées avec du Giemsa, et put mettre en évidence ainsi les rapports entre la substance granulo-filamenteuse et le noyau. Dans la partie libre du protoplasma la substance granulo-filamenteuse se condense, le noyau se rapproche du bord de l'hématie et finit par quitter la cellule. De nouveau des planches en couleurs semblent très convaincantes. Néanmoins un certain nombre d'hématologistes s'étonnent avec COOKE que ce soit là le seul exemple en biologie « de hara kiri cellulaire ».

Nous avons, avec le Pr N. FIESSINGER, pensé apporter un éclaircissement aux rapports qui unissent la substance granulo-filamenteuse et le noyau en étudiant par la coloration vitale les globules rouges de certaines espèces animales présentant normalement des hématies nucléées.

Nous avons choisi le pigeon, la grenouille, le lézard et le triton. Nous avons fait trois préparations postvitales pour chaque animal : une à l'azur II, une au bleu brillant crésyl (ou au violet vital) et une au vert janus B. Les étalements au bleu crésyl furent séchés et surcolorés au Tribondeau.

Il faut savoir que le sang du pigeon coagule très vite. Nous avons dû rincer préalablement la pipette avec laquelle on prélève le sang en nous servant d'une solution d'oxalate de K à 0,5 %. Le prélèvement se fait à la veine de l'aile, après avoir

arraché les plumes et nettoyé la peau à l'éther pour la dégraisser.

Nous avons fait la même constatation que le Prof. C. SEYFAHRT : il existe 2 ordres d'hématies nucléées chez le jeune pigeon. Les unes présentent un protoplasma pâle, un contour arrondi ; leur noyau possède un réseau chromatinien lâche, avec parfois une ou deux vacuoles. La substance granulo-filamenteuse forme une couronne dense autour du noyau. Ce sont des érythrocytes très jeunes, et leur pourcentage ne dépasse pas 10 % normalement. La plupart des hématies ont une forme ovale, leur noyau semble compact. De fines granulations et brindilles se voient éparses dans environ 50 % de celles-ci. SEYFAHRT a examiné la moelle osseuse du poulet, et a trouvé que les proérythroblastes non encore pourvus d'hémoglobine ne contenaient jamais de substance granulo-filamenteuse. Nous reviendrons plus loin en détail sur ce point. Il ressort de ces expériences que dans aucun cas le réticulum ne peut être assimilé à des restes nucléaires, corps de Jolly, etc.

Le sang de la grenouille (*Rana Esculenta*) a été étudié moyennant des colorations vitales par de nombreux auteurs. Déjà en 1896 HORSLEY nota des granulations bleues entourant le noyau des hématies chez les Batraciens, en traitant le sang frais par du bleu de méthylène. Ces éléments furent aussi remarqués par LELIÈVRE et RETTERER. SABRAZÈS et MURATET, CESARIS-DE-MEL, JOLLY. Ce dernier auteur interprète comme artefacts les granulations et filaments obtenus en traitant les hématies des Batraciens par l'emploi du rouge neutre ou du bleu de méthylène directement mélangé à la goutte de sang frais. Il les considère aussi comme pouvant être dans certains cas d'origine mitochondriale. Nous ne partageons point l'avis du Prof. JOLLY à ce sujet. Nous avons, en effet, observé des granulations assez grosses isolées, au nombre de 5 à 6 apparaissant dans le protoplasma des hématies de la grenouille. Avec l'Azur II certaines de ces granulations sont légèrement métachromatiques au début de la coloration postvitale, puis virent au bleu foncé en quelques instants, tout comme les granula des réticulocytes humains. Le pourcentage de ces hématies à granula est de 20 %.

Enfin nous avons traité par les colorations postvitalles du sang de lézard (*Lacerta Viridis*) et du triton. Nous n'avons pu observer dans les hématies de ces animaux ni granula ni réseau basophile.

RAPPORT AVEC LES MITOCHONDRIES

L'existence de mitochondries dans les éléments figurés du sang a été rapportée par MEWES et par COWDRY. Il est incontestable que les lymphocytes contiennent des éléments de nature mitochondriale. Le réactif de choix pour les mettre en évidence sur les colorations vitales est le vert Janus B. Ils se présentent sous forme de bâtonnets arrondis, animés d'un mouvement brownien rapide ; ils sont labiles et deux heures après la sortie du sang des vaisseaux ils disparaissent. Une autre technique consiste à fixer le sang frais par du bichromate de potasse-formol-nitrate d'urane, et différencier par l'hématoxyline de Regaud (Tupa). On obtient ainsi de très belles préparations à condition de laisser les lames au moins 24 heures dans le fixateur. Sinon, on voit apparaître des précipitations dans tous les globules, qui peuvent en imposer pour des éléments préexistants.

D'après les travaux de MEWES et les illustrations qui les accompagnent, on serait tenté de croire que de véritables mitochondries existent dans les hématies, il ne s'est d'ailleurs servi que de préparations fixées. Déjà KEY avait réfuté cette thèse en 1921, employant l'épreuve du vert Janus B en coloration post-vitale. Le réticulum des hématies jeunes est visible au bout de quelques minutes, il persiste tant que la préparation n'est pas abîmée ou lysée, et même après hémolyse le réticulum nage dans le plasma, alors que les hématies sont détruites. Jamais granula ou filaments ne sont animés de mouvements. La comparaison avec de véritables éléments mitochondriens est facile à faire sur les mêmes préparations : les lymphocytes en contiennent en abondance. Mais en 1 à 2 heures ces éléments si mobiles s'immobilisent, pâlisent et disparaissent complètement. Une surcoloration au Giemsa ne permet pas de les retrouver, alors que la subs-

tance granulo-filamenteuse des réticulocytes apparaît encore très nettement bleu verdâtre dans les hématies.

Deux de nos figures représentent du sang traité par le Tupa. Dans l'une une fixation insuffisante a produit une sorte de réti-



FIG. 2. — Sang de pigeon, Tupa (mitochondries dans une lymphocyte seulement).

culum qui est un pur artefact. L'autre planche provient du dessin à la chambre claire de sang de pigeon traité par le Tupa. Les mitochondries de certains leucocytes ressortent nettement. Dans aucun globule rouge on n'aperçoit de granula ou de filaments mitochondriens.

En résumé : *La substance granulo-filamenteuse n'a aucun rapport avec les restes nucléaires. Et grâce aux colorations par le vert*

Janus B et le Tupa on peut affirmer que cette substance réticulaire n'est pas identique à la substance mitochondriale.

L'épreuve au vert de méthyle nous a servi pour montrer que la substance granulo-filamenteuse n'a aucun rapport avec la chromatine. Celle-ci se colore électivement par le vert de mé-

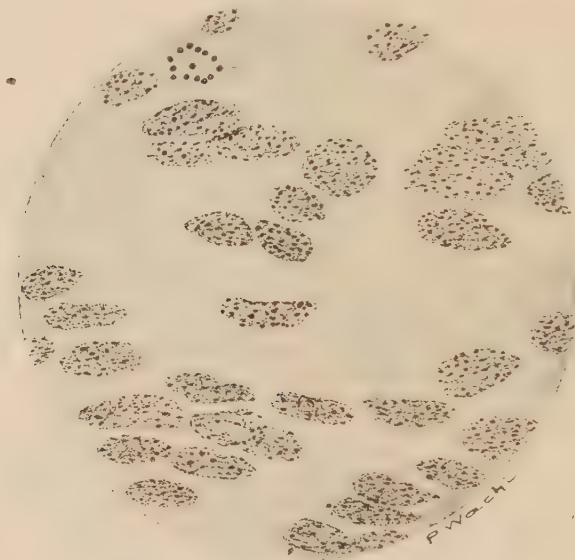


FIG. 3. — Hématies humaines Tupa. Artefacts.

thyle ; et jamais aucun élément de l'ordre granulo-filamenteux n'a pu être mis en évidence dans les hématies par l'emploi en coloration postvitale de ce colorant.

Nos connaissances au sujet du rôle biologique de la substance granulo-filamenteuse du réticulocyte se réduisent à des hypothèses jusqu'à présent.

Il en est une très séduisante, et nous nous proposons de consacrer des travaux ultérieurs à ce sujet. Elle est basée sur deux faits qui n'ont pas de rapport évident en apparence :

1^o Tous les bleus basiques, et surtout le bleu de méthylène sont des réducteurs.

2° La substance réticulo-filamenteuse est d'autant plus abondante que l'hématie est plus jeune et moins riche en hémoglobine.

Ajoutons enfin que, d'après les travaux de WARBURG et de ses collaborateurs, les sangs riches en réticulocytes consomment ou métabolisent beaucoup plus d'oxygène que les sangs où le pourcentage réticulocytaire est peu élevé.

Nous n'exposerons pas en détail les travaux de O. WARBURG qui montrent que l'oxygène intra-cellulaire peut transformer une leucobase incolore en une substance colorée, le bleu de méthylène ayant servi électivement à ses expériences. Ne pourrait-on pas imaginer *la substance réticulaire comme faisant fonction de fixateur d'oxygène en attendant l'élaboration d'hémoglobine*, différenciant déjà ainsi le globule rouge vers sa fonction respiratoire ?

Malheureusement, deux faits bien établis s'opposent à l'acceptation de cette hypothèse. Le premier c'est que dans les proérythroblastes à protoplasma basophile, non encore hémoglobini-fère il n'a jamais été observé de substance granulo-filamenteuse. C. SEYFAHRT est très affirmatif à ce sujet, ainsi que le Prof. NÄGELI. Ensuite, au cours de la chlorose, où les hématies sont très pauvres en hémoglobine on ne note pas la persistance ou l'apparition de réticulocytes dans le sang circulant. Leur taux est généralement normal ou subnormal dans cette affection.

Nous rapporterons ici également les critiques faites par DAVIDSON au sujet du travail de COOKE. « Ce dernier a, en effet, traité des globules rouges par un mélange d'alcool, d'eau, d'eau oxygénée et de benzidine, montrant ainsi que les lipoides de la membrane avaient été dissous puisqu'à l'intérieur de la cellule pouvait se voir la production bleue méri-quinonoïde. Celle-ci est produite par l'oxydation de la benzidine par l'eau oxygénée en présence d'un catalyseur, en l'espèce l'hémoglobine. J'ai répété le travail de COOKE, dit DAVIDSON, et discuté avec lui le problème. Bien qu'il ait reproduit par ces procédés des aspects simulant la réticulation il n'est pas douteux qu'il s'agisse de deux choses différentes. Les taches et les branchages colorés en bleu

sont le résultat de l'oxydation de la benzidine par l'eau oxygénée en présence d'une peroxydase qui est ici l'hémoglobine. Les aspects produits dépendent, parmi d'autres facteurs, du degré de dommage causé à l'enveloppe lipoidique et du montant d'hémoglobine libérée avant la fixation du stroma par l'alcool.

En résumé, il n'y a pas de rapport constant entre la charge en hémoglobine du globule rouge et la quantité de substance granulo-filamenteuse qu'il peut contenir.

RAPPORT AVEC LA POLYCHROMATOPHILIE ET AVEC LES ERYTHROCYTES PONCTUÉES

Un autre problème encore se pose : *quels sont les rapports entre la substance granulo-filamenteuse et la polychromatophilie ?* La question a été très discutée ; SABRAZÈS et son école soutenaient une thèse opposée à celle de PAPPENHEIM ; encore une fois *Folia Hæmatologica* fut le siège des controverses très vives en 1910. Voici ce dont il s'agit.

La coloration d'étalements de sang, séchés et fixés à l'alcool, si elle est effectuée par un triacide, genre Giemsa ou Tribondeau, révèle des hématies ardoisées contrastant avec les hématies roses normales. Cet aspect ne s'observe pas à l'état normal, mais le plus souvent au cours d'anémies. Ces hématies sont parfois plus petites que la moyenne (microcytes) parfois plus volumineuses, mais il en existe dont la forme est semblable à celle d'érythrocytes normaux. Elles ont fixé l'élément basique du colorant combiné : on peut imaginer que ce soit là l'expression, sous une autre forme, de la présence de substance granulo-filamenteuse. BRUCKNER a apporté des arguments en faveur de cette théorie, mais ils ne sont pas définitivement concluants. Cet auteur appelle « hématies basophiles » toutes les hématies dans lesquelles on peut mettre en évidence une substance basophilé, diffuse ou organisée, en coloration supravitale ou après fixation. Il admet qu'elle s'y trouve naturellement à l'état colloïdal, et que les méthodes de colorations diverses la révèlent sous divers

aspects. Malheureusement, il omet de donner des tableaux de comparaison ou de pourcentage, et ses considérations semblent bien théoriques. Nous avons déjà montré dans le chapitre « historique » combien la confusion entre les *hématies granulo-filamenteuses* et les *érythrocytes ponctués*, ceux-ci révélés par le bleu de Loeffler après fixation à l'alcool méthylique, avait compliqué les discussions hématologiques jadis. De très nombreuses comparaisons que nous avons faites nous-même, en appliquant les deux méthodes au même sang, nous concluons que la substance basophile des réticulocytes n'est pas identique à celle observée dans les érythrocytes ponctués au cours du saturnisme. Les hématies du pigeon si riches en réticulum n'ont jamais présenté de granula quand nous les traitions par le bleu de Loeffler après fixation. Cependant, BROOKFIELDs a fait une constatation curieuse : les logarithmes des chiffres de réticulocytes et d'érythrocytes ponctués se suivent de près et les courbes de ces log. sont presque parallèles. Il a étudié ces hématies basophiles au cours d'expériences en vue de traiter des néoplasmes par des sels de plomb. Dans ses conclusions il transige de la façon suivante : selon lui, les érythrocytes ponctués seraient des hématies jeunes, immatures, lésées par l'effet toxique du plomb. On pourra objecter que ses animaux étaient devenus anémiques par ce même effet toxique du plomb. Il ne faut point s'étonner dès lors que par un hasard évident, les courbes de réticulocytes et celles des érythrocytes ponctués puissent avoir eu une évolution semblable à un moment donné.

Nous n'avons pu confirmer ses observations au sujet des préparations de réticulocytes surcolorées au Giemsa après dessiccation. Nous n'avons pas observé comme lui que toute polychromatophilie avait disparue par ce procédé, alors que sur des lames colorées au Giemsa seul, sans coloration supravitale précédente la polychromatophilie existait. De plus, quand nous colorons nos réticulocytes par le violet vital (mélange de bleu crésyl et rouge neutre) certaines hématies sont très foncées, et peuvent contenir autant de substance granulo-filamenteuse que des hématies très pâles. On remarque ce même aspect en se ser-

vant de rouge neutre seul. PAPPENHEIM, et ROSIN et BIBERGEIL ont très bien reproduit ces aspects dans les planches qui illustrent certains de leurs travaux.

Nous concluons de ces recherches que *la substance granulo-filamenteuse n'est pas identique à la substance qui se révèle sous l'aspect de fines poussières dans les érythrocytes ponctuées, observées au cours de l'intoxication par le plomb*. Quant à la fixation sur certaines hématies de composé basique présent dans les colorants triacides, qui agissent après fixation alcoolique, nous ne l'assimilons pas au même processus que celui révélé par la coloration postvitale.

CHAPITRE IV

LA RÉTICULOCYTOSE À L'ÉTAT NORMAL ET PATHOLOGIQUE

Nous aborderons maintenant l'étude de la réticulocytose à l'état normal et dans les états pathologiques, sans oublier qu'il existe des réactions réticulocytaires dans des conditions qui sont à la limite de ces états. Il existe en effet une érythrémie des altitudes due à la raréfaction de l'air, que SEYFAHRT a pu reproduire expérimentalement. On connaît aussi une réticulocytose provoquée par des irritations exogènes non pathologiques, le soleil, et les bains de boue radio active.

LES RÉTICULOCYTES CHEZ LE SUJET NORMAL

Nous avons déjà exposé le comportement des éléments de la série rouge dans le sang de l'embryon et du fœtus. Nous rappellerons encore les études si détaillées de MOLDAWSKY, de SEYFAHRT et JURGENS, qui tous deux, ont constaté une baisse régulière du taux des réticulocytes depuis la naissance jusqu'au 10^e ou 14^e jour, tombant de 15 % à 5 % environ. CHEZ L'ENFANT normal, le taux des réticulocytes est à peu près identique à celui du sujet adulte : c'est-à-dire de 0,5 à 0,8 %. Même 1 % est encore un chiffre normal. NAEGELI admet qu'au-dessus de 1 % la réticulocytose traduit une activité hématopoïétique exagérée de la moelle osseuse. On sait que les enfants présentent des réactions

fébriles vives pour des causes parfois minimes, des réactions leucocytaires aussi très sensibles, lympho-monocytaires dans la 1^{re} enfance, puis polynucléaires. Les réticulocytes sont forcément jetés dans la circulation périphérique dans de très légers états pathologiques, jusqu'à l'âge de 12 ou 13 ans.

La puberté qui exerce une influence si considérable sur le métabolisme général des adolescents est surtout intéressante à étudier chez les filles car les pertes de sang occasionnées par les règles provoquent des modifications sanguines. Ainsi, les thrombocytes diminuent d'un tiers du chiffre normal dans les 48 à 24 heures qui précèdent les règles. Une étude systématique et comportant un nombre considérable d'observations a permis au Dr BENHAMOU d'établir ce phénomène et de le prévoir.

Chez la femme on observe des troubles dans l'hémo-poïèse au moment des règles. Nous avons, avec H. R. OLLIVIER, rapporté en 1926 un cas de crise normoblastique fugace observée 2 mois de suite chez une jeune fille chloro-anémique, crise normoblastique ayant lieu entre le 8^e et le 10^e jour avant les règles, au moment, semble-t-il, de la formation du corps jaune.

Nous possédons un certain nombre d'observations chez la femme normale, dans la période postmenstruelle. Nous en citerons trois, qui représentent chacune un type ; le plus fréquent correspond au n° 3, c'est-à-dire très légère réticulocytose le 3^e ou 4^e jour des règles.

OBS. I. — *Type 1.* M^{lle} T..., 28 ans. Sujet normal. 2 nov. 4.200.000 gl. r. 8.500 gl. bl. 2 % réticulocytes. 7 nov. apparition des règles la veille. 4.400.000 gl. r. et 6.200 gl. bl. 0,8 % réticulocytes. Cessation des règles le 12 nov. Examen du sang le 14 nov. 4.180.000 gl. r. et 7.000 gl. bl. et seulement 0,4 % de réticulocytes.

Dans cette série nous avons 3 obs. dont le comportement des réticulocytes est comparable : Réticulocytose de 1,4 à 2 % vers le 5^e jour qui *précède* les règles.

OBS. II. — *Type 2.* M^{lle} L..., 35 ans. Sujet normal. 1^{er} juillet 4.800.000 gl. r. et 0,1 % de réticulocytes. Les règles apparaissent le 5 juillet ; le lendemain : 4.755.000 gl. r. et 2,4 % réticulocytes. Le

7 juillet 4.820.000 gl. r. et 1,8 % réticulocytes. Cessation des règles le 11 juillet. Examen de sang le 15 juillet : 5.100.000 gl. r. et 0,3 % de réticulocytes.

Cinq autres observations confirment que chez certaines femmes une légère réaction réticulocytaire a lieu *en même temps* que la petite hémorragie menstruelle.

Obs. III. — *Type* 3. M^{me} Go..., 30 ans. Le 21 nov. 1930 : 4.750.000 gl. r., 6.000 gl. bl. 0,01 % réticulocytes. Les règles débutent le 25 nov. : elles sont peu abondantes et cessent le 1^{er} déc. La réticulocytose oscille entre 0,01 et 0,05 pendant ce temps, les examens de sang sont faits tous les deux jours. Nous trouvons le 4 déc. seulement une petite augmentation du taux des réticulocytes : 0,09 %, le 5 déc. il y a 0,12 %. Enfin, le 10 déc. de nouveau 0,01 %. L'écart entre le taux des hématies par mmc. ne dépassa jamais 300.000 (min. 4.580.000, max. 4.820.000).

En somme, la menstruation agit le plus souvent comme une petite saignée expérimentale, suivie d'une très légère réticulocytose pendant la période de réparation. Il serait intéressant de suivre la température, la tension artérielle et même le métabolisme basal pendant les règles : ceci permettrait d'étudier le facteur constitutionnel des sujets et permettrait de les grouper suivant certains modes réactionnels qui leur sont particuliers.

La menstruation n'agit pas uniquement par le fait des petites hémorragies qu'elle entraîne ; des influences hormonales entrent en jeu qui sont assez importantes. Les études ne sont pas très nombreuses à ce sujet, mais il existe un travail très complet de A. POLTZL (en 1910). L'auteur examine le sang de 17 femmes adultes pendant 2 ou 3 mois consécutifs. Elle a constaté que le chiffre des globules rouges augmentait pendant les jours qui précèdent les règles atteignant un maximum la veille de leur apparition. L'augmentation est de 1.000.000 à 1.800.000. L'espace maximum entre ce clocher de gl. r. et l'apparition des règles était de 9 jours ; les numérations de globules furent faites quotidiennement, dans les mêmes conditions. Autre fait curieux : le maximum du taux de l'hémoglobine s'observait

précisément les jours où le chiffre des hématies était à son minimum. POLTZL cite une douzaine d'auteurs qui ont tous rapporté des faits analogues : clocher du chiffre des hématies juste avant les règles et amorce de la baisse de ce chiffre quelques heures avant le début de l'écoulement menstruel. Les rapports entre la sécrétion interne des ovaires et la fonction hématopoïétique a aussi été étudiée par H. JOSAM (1928). Immédiatement après la castration (chez divers animaux de laboratoire) on note une véritable inondation du sang périphérique par des hématies jeunes, pauvres en hémoglobine et riches en substance granulo-filamenteuse. Mais en quelques jours cette poussée s'atténue puis disparaît. L'administration d'extraits d'ovaires ne provoque pas de diminution des hématies dans le sang circulant. Mais JOSAM lui-même admet qu'il serait prématuré de déduire un processus d'inhibition s'exerçant de la part des ovaires sur la moelle osseuse ; il ne veut pas attribuer la pléthore des femmes ovariectomisées et celle de la ménopause à des phénomènes de ce genre.

Nous ne possédons que quelques examens isolés du taux des réticulocytes dans le sang même des menstrues. Il est un peu supérieur à celui du sang circulant, ne dépasse pas 3 % et ne peut être recherché avec quelqu'exactitude que le 1^{er} et 2^e jour des règles, alors que le sang n'est pas visqueux et mélangé à des sérosités.

Le comportement des hématies, tant comme chiffre par mmc. que comme aspect morphologique a été étudié au cours de la grossesse — et surtout au cours des anémies dites gravidiques. Nous ne mentionnerons ici que les variations des réticulocytes à l'état normal : légère augmentation vers le 8^e mois, puis petites crises réticulocytaires au moment de la réparation sanguine post-hémorragique si la femme a saigné tant soit peu abondamment à son accouchement.

CHEZ LE VIEILLARD. — Nous avons examiné le sang de plusieurs vieillards, en bonne santé et qui ne se trouvaient qu'à titre de pensionnaires à la Maison de Santé municipale. Le taux des réticulocytes était toujours inférieur à 2 %.

Un seul sujet de 72 ans, qui présentait des crises de toux et d'asphyxie passagère, avec légère cyanose, dues à une dilatation des bronches présenta 3 % à 5 % de réticulocytes avec 4.950.000 gl. r. par mmc.

Cette anomalie est en opposition avec les expériences de ROBERTSON, qui trouve une disparition quasi-totale des réticulocytes au cours de la pléthore expérimentale par petites transfusions répétées. Il semble que l'asphyxie et la respiration d'air raréfié puisse, au contraire, provoquer une polyglobulie périphérique toute mécanique avec réticulocytose.

Enfin FRIEDLANDER a signalé des variations saisonnières du taux des réticulocytes : réticulocytose légère en été, l'augmentation étant de l'ordre de 0,05 %.

RÉTICULOCYTOSE PHYSIOLOGIQUE EXPÉRIMENTALE

La réticulocytose physiologique expérimentale a été provoquée par SEYFAHRT sur des petits animaux de laboratoire. Il possède une grande quantité de numérations réticulocytaires se rapportant aux animaux normaux. Voici comme chiffres normaux, 0,5 à 5 % chez le cobaye, 3 à 5 % chez le rat, 4 à 6 % chez la souris, 3 à 8 % chez le lapin.

Nous-même pouvons confirmer ces chiffres pour le cobaye, mais nous avons examiné plusieurs lapins qui ne présentaient que 1 à 3 % de réticulocytes, à l'état normal.

L'ingénieuse expérience de SEYFAHRT consistait à enfermer ses animaux dans un dessiccateur relié à une pompe à vide et à un manomètre à Hg. Un système de tubes et de robinets permettait d'introduire de l'air ou de l'oxygène sous la cloche. Une couche de tourbe absorbait les déjections des animaux.

Une pression de 410 à 480 mm. Hg qui correspond à peu près à la densité de l'air que l'on observe à 4.000 m. d'altitude, fut établie. Au bout de 24 heures, et plus nettement encore après 48 heures, il note une augmentation considérable des réticulo-

cytes chez ces animaux sans que le chiffre des hématies par mmc. ait varié. C'est ainsi que la réticulocytose atteint 15 à 35 % chez les lapins, 10 % chez des rats, 15 % chez des souris. Les cobayes semblent être moins sensibles : moyenne de 6 %. Chez les deux pigeons, pas de modifications appréciables mais presque toutes les hématies de ces oiseaux possèdent, outre le noyau, une substance granulo-filamenteuse plus ou moins abondante. La réaction se faisait en général d'autant plus vite que l'animal est plus jeune. Cette réticulocytose porte autant sur le sang des viscères profonds que sur le sang périphérique. SEYFAHRT s'en est rendu compte en examinant le sang prélevé par ponction du cœur chez plusieurs animaux. Le nombre des hématies par mmc. n'augmente que lorsque le séjour des animaux dans l'air raréfié atteint 1 ou 2 semaines au moins. L'auteur note une augmentation de 4.900.000 (hémogl. 75 %) à 6.300.000 (hémogl. 80 %) après 18 jours. Chez des lapins anémiés légèrement par une petite saignée avant leur mise en expérience sous cloche, la régénération sanguine était très violente : crises réticulocytaires de 50 à 70 % au bout de 3 à 6 jours.

En faisant varier la lumière, la température, on n'obtenait pas de modifications du comportement décrit ci-dessus. Mais si un faible courant d'oxygène passait dans la cloche où la pression était diminuée, les réactions sanguines étaient faibles ou nulles. SEYFAHRT admet que le « séjour des animaux dans une atmosphère raréfiée, mais où la tension de l'oxygène est la même qu'à l'air extérieur, l'action stimulante sur la moelle ne s'exerce pas ».

LES RÉTICULOCYTES SOUS LES INFLUENCES PHYSIQUES

Nous commencerons ce paragraphe par l'étude des réactions sanguines de la série rouge sous l'influence d'agents stimulant de la fonction hématopoïétique de la moelle osseuse.

Il en est qui s'éloignent peu de l'état normal, administrés à

faible dose : substances radioactives et rayons. A forte dose, ils exercent sur la moelle une action toxique.

Puis nous aborderons le grand chapitre des maladies du sang, les affections chroniques et aiguës, et l'on voudra bien nous pardonner de ne pouvoir entrer dans tous les détails, hypothèses et recherches incomplètes à ce sujet, qui forme le but principal de notre travail.

* * *

C'est encore SEYFAHRT qui a signalé une réticulocytose, légère mais constante survenant au cours d'enveloppements de boue (bains de boue) radioactive comme on les pratique dans certaines stations thermales. Des sujets ainsi traités ont présenté de 6 à 10 % de réticulocytes, puis une augmentation minime des globules rouges totaux.

L'étude de l'influence des radiations, rayons X et radium sur le sang est beaucoup plus délicate à étudier qu'on ne le croit. En effet, les sujets irradiés sont atteints soit de cancer (réticulocytose fréquente au cours de celui-ci) ; soit de leucémies, où la réticulocytose est presque de règle, ou encore de maladie de Hodgkin. Le sujet normal est le radiographe ; il est sous surveillance médicale, présentant facilement des accidents, anémiques ou cutanés. C'est à lui qu'il faut faire des examens de sang pour étudier l'effet des rayons chez le sujet normal.

Il serait injuste de passer sous silence les travaux de HAUSMANN et de ses collaborateurs au sujet du comportement, *in vitro*, des hématies soumises à l'action de rayons cathodiques.

Des globules rouges non lavés, sur plaque d'agar, sont soumis à une sorte de bombardement par des rayons cathodiques : 500 décharges en 2 heures, filtrés par 7 μ d'aluminium, et frappant les hématies d'une distance de 5 à 10 mm. Il apparaît un cercle clair hémolysé sur la couche de sang, — le centre reste intact. Mais des hématies recueillies en ce centre et portées dans une solution de saponine, résistent à l'hémolyse, si facilement obtenue par cette substance. Les auteurs disent qu'elles sont

devenues « saponine-résistantes ». Un processus analogue s'observe avec les rayons β radioactifs et d'autres rayons de nature différente. Mais *in vivo* les choses se passent autrement, et si les rayons X, ceux du thorium et du radium exercent une action sur les éléments figurés du sang c'est parce qu'ils s'attaquent non pas au sang circulant, mais aux centres germinatifs de celui-ci, situés dans la moelle osseuse.

Dans le *Traité des Maladies du Sang* (édit. 1931) de NÆGELI, on trouve les renseignements essentiels de la « Radiologen Anémie » observée chez des sujets sains qui manipulent habituellement des rayons X. Cette anémie est soit passagère — avec crises réticulocytaires au moment de la réparation, soit grave, mortelle, avec moelle osseuse jaune, grasseuse, et disparition complète des tissus hématopoïétiques. Il existe une loi : petites doses de rayons — stimulation de l'hématopoïèse ; petites doses très longtemps répétées — inhibition, parfois définitive de l'hématopoïèse. La courbe des réticulocytes dans divers cas a été peu observée.

Les anémies survenant chez des sujets normaux qui se trouvent en contact fréquent avec des substances radioactives, sont généralement des anémies aplastiques, la moelle osseuse est grasseuse entièrement et incapable d'élaborer des hématies. Les cas observés par LACASSAGNE, P. E. WEIL et d'autres présentent cet aspect. Mais les réticulocytes ne sont généralement pas étudiés. REITTER, en 1926, rapporte un cas d'anémie plastique chez une employée de la radiologie. La moelle osseuse était en pleine reviviscence, mais c'est une observation exceptionnelle.

Nous-même avons surveillé pendant 2 ans les variations morphologiques et numériques des éléments figurés du sang chez un confrère, le Dr CH..., radiologiste des hôpitaux. Le taux des globules rouges oscillait entre 4.200.000 et 4.900.000. Les réticulocytes ne dépassaient pas 1 %. L'infirmière qui préparait les appareils, plaques, etc., dans ce même établissement était souvent fatiguée, présentait au minimum 3.800.000 gl. r., et toujours un taux élevé de réticulocytes : jusqu'à 3,5 %. Mais elle

était basedowienne, et nous verrons plus loin que c'est à cet état qu'était lié sa réticulocytose.

Avec le Prof. N. FIESSINGER et Ph. DECOURT, nous avons publié un cas d'agranulocytose d'origine radiothérapique, mais le sujet présentait une splénomégalie. En résumé, les sujets sains peuvent présenter une anémie aplastique souvent mortelle à la suite d'expositions répétées aux rayons X, au radium, au thorium. La courbe des réticulocytes n'a pas été étudiée systématiquement au cours de ces anémies. Elle est normale chez les radiologues bien portants.

LES RÉTICULOCYTES EN PATHOLOGIE SANGUINE

ANÉMIES

Étudions d'abord les anémies dites primitives, c'est-à-dire apparaissant sans cause décelable, s'accompagnant ou non de splénomégalie. Leur cadre se réduit de plus en plus, car on perfectionne les moyens d'investigations, et on décèle souvent une cause toxique ou infectieuse à telle anémie apparemment cryptogénétique. Reste cependant l'anémie progressive pernicieuse dite de Biermer ; elle n'est aplastique qu'à la période terminale. La moelle osseuse est généralement parsemée de foyers hématopoïétiques en pleine activité, mais en activité perversie : au lieu de normoblastes elle produit des mégalo blastes, exactement semblables aux mégalo blastes qui circulent chez l'embryon avant le 4^e mois, au stade où le foie n'est pas encore une glande à fonctions digestives mais une glande à fonctions exclusivement hématopoïétiques. Les mégalo blastes avec leur noyau à réseau chromatinien lâche, vacuolaire, comme boursofflé, leur protoplasma basophile, grisâtre, présentent à la coloration vitale une distribution diffuse de la substance granulo-filamenteuse, qui s'y trouve sous forme de très minces brindilles. Beaucoup de mégalo blastes à peine différenciés de la cellule souche n'en possè-

dent pas. SEYFAHRT a étudié ces cellules, et son opinion est encore plus catégorique que la nôtre : d'après lui les mégalo-blastes immatures ne possèdent pas de substance granulo-filamenteuse. Incontestablement, les grosses hématies pâles, qui sont très caractéristiques de l'anémie de Biermer, même au cours d'une crise réticulocytaire, ne contiennent généralement pas ou peu de substance granulo-filamenteuse. Mais, PEABODY, qui a fait de très nombreuses biopsies de moelle osseuse (tibiale) par trépanation sur des malades avant et après le traitement, a montré que la moelle ne lâche pas ses mégalo-blastes dans la circulation au cours de l'anémie de Biermer non traitée. Dès que ces malades sont soumis au traitement de Whipple (ingestion quotidienne de 150 à 200 gr. de foie de veau cru) les mégalo-blastes disparaissent de la moelle, sont remplacés par des normoblastes qui essaient à leur tour des globules rouges nouveaux dans la circulation. Déjà trois ou quatre jours après le début du traitement, alors que le nombre des hématies par mmc. n'a pas encore augmenté, on assiste à une crise réticulocytaire. C'est une véritable « inondation » par des hématies granulo-filamenteuses, qui atteignent 10 à 20 %, même plus parfois. On s'en sert aujourd'hui comme critère classique du traitement par la méthode de Whipple.

Disons, en passant, que la valeur globulaire est élevée au-dessus de 1 dans cette anémie pernicieuse, c'est une des caractéristiques, véritable stigmat, de la maladie ; ce phénomène est dû à ce que la charge en hémoglobine de chaque globule rouge est plus forte que normalement. La poikilocytose, l'anisocytose avec macrocytes, sont aussi observées régulièrement.

Il existe à l'heure actuelle des milliers d'observations d'anémie pernicieuse de Biermer où la courbe réticulocytaire est étudiée presque quotidiennement, avant et pendant le traitement par le foie de veau. Nous en possédons nous-même une dizaine de cas. Citons-en seulement quelques-uns très typiques et ajoutons que tous, au bout d'un ou deux ans de traitement, ont présenté peu à peu des signes de pseudo-tabès anémique, n'allant parfois pas au delà de fourmillements et paresthésies dans les

extrémités, complétant d'autres fois le tableau par une démarche tabétique caractéristique. Les sujets les plus « beaux » cliniquement, sont devenus hépato-résistants et nous n'avons pu les soustraire à une terminaison fatale...

Malheureusement, nous ne possédons pas de biopsie de moelle osseuse faite chez nos Biermériers, tandis que MINOT et MURPHY en ont examiné de nombreux exemplaires. C'est cette étude approfondie de la moelle qui leur a permis d'établir certains faits, aussi constants que des lois. Nous ne pouvons mieux faire que de citer ici les conclusions de leur travail d'ensemble (1928) sur les réactions des réticulocytes au cours du traitement par le foie cru. « *L'anémie*, dans la maladie de Biermer, est due à ce que les cellules primordiales de la moelle osseuse ne peuvent pas se différencier en érythrocytes adultes. »

L'ingestion de grandes quantités de foie, de rognons ou du « facteur actif » extrait de ces organes, détermine chez les sujets atteints d'anémie de Biermer, une crise réticulocytaire ; celle-ci dure 9 jours environ. L'élévation du chiffre qu'atteignent les réticulocytes dans le sang périphérique est en raison inverse du taux initial des hématies par mm³. ; si ce taux est au-dessus de 3.000.000, la crise réticulocytaire est peu intense ; néanmoins, le chiffre des globules rouges s'élève rapidement si le traitement est poursuivi. Parfois des éléments jeunes de la série myéloïde peuvent apparaître parallèlement aux réticulocytes dans le sang périphérique :

Quand on a administré des doses insuffisantes de foie, puis de hautes doses, on peut voir apparaître deux clochers successifs dans la courbe des réticulocytes : l'un dû aux doses faibles, initiales de foie, l'autre, plus élevé, déterminé par des doses élevées. Si l'on commence le traitement alors qu'il existe déjà un taux élevé de réticulocytes dans le sang (crises réticulocytaires spontanées au cours des périodes de rémission) le nombre des globules rouges augmente sans être précédé d'une poussée de réticulocytes attribuable au traitement. L'ingestion de grandes quantités de foie (ou d'extrait de foie actif) ne détermine pas de réticulocytose chez le sujet *normal*, et des réactions faibles

et inconstantes dans les anémies secondaires. Cependant, quelques anémies atypiques, par exemple au cours de la grossesse, réagissent très bien au traitement par le foie ou ses extraits ; la courbe des réticulocytes présente des clochers typiques dans les anémies dues à la sprue et à divers vers intestinaux, si elles sont traitées par de fortes doses de foie ».

Les auteurs citent des observations où la crise réticulocytaire est retardée, prolongée, mais elles sont en minorité vis-à-vis des observations typiques. Et déjà, en 1928, MINOT et MURPHY notent combien peu les syndromes nerveux, pseudotabétiques de l'anémie de Biermer sont influencés, alors que l'ingestion régulièrement poursuivie de foie a guéri le malade au point de vue hématologique.

Anémies pernicieuses type Biermer

Le caractère « cryptogénétique » de l'anémie pernicieuse de BIERMER ressort très nettement des deux observations que nous allons rapporter maintenant. Les deux malades disent avoir eu des ennuis, revers de fortune, inquiétudes au sujet de membres de leurs familles, qui ont progressivement « ruiné leur santé ». Nous avons dirigé notre enquête au point de vue alimentation : aucune n'a négligé ses repas, se forçant même à manger. Il n'est donc pas question ici de carence, ni de misère physiologique. Ces deux sujets ont réagi au foie de veau par une régénération sanguine, ont présenté à la longue une ébauche de syndrome neuro-anémique et sont mortes : exsangues, cachectiques. Par la formule sanguine, l'examen clinique et radiologique on a pu écarter tout autre diagnostic qu'anémie de Biermer.

OBS. IV. — M^{me} Lam..., 52 ans est examinée en décembre 1929 par un confrère de Melun qui trouve alors : gl. r. 4.928.000, gl. bl. 5.200, hémogl. 60 %, v. gl. 1,4. Malade pâle, à teint jaunâtre, présentant une grosse rate mais pas d'adénopathies. Le foie de veau et l'hépatrol sont essayés, mal supportés, elle abandonne le traitement.

Elle entre à la Maison municipale de santé le 6 nov. 1930. Dans son histoire, on trouve un épisode dramatique (essai de suicide du mari,

intériorisé pour troubles mentaux) coïncidant avec le retour d'âge de la malade. Le B. W. a été fait, il est négatif.

A l'examen, malade très pâle, teint de cire jaune, démarche titubante, due à des troubles sensitifs des membres inférieurs, très nets à gauche surtout.

Tout l'examen somatique est négatif, sauf la présence de souffles anorganiques du cœur, de souffles anémiques oculaires et jugulaires. Ni splénomégalie, ni hépatomégalie. Urines normales. Tubage gastrique sans HCl libre. Pas de sang dans les selles. Index biliaire plasmatique 5,2. H. v. den Bergh indirect a 1,92 unités. Formule sanguine le 3 nov. : gl. r. 1.880.000, gl. bl. 2.600, hémogl. 34 %, rétic. 2,5 %.

La formule qualitative révèle des modifications importantes :

Polys neu.....	45 %
Polys éos.-bas.	0 %
Gd monos	1 %
Moy. monos	35 %
Lymphos	19 %
Normobl.	2 %
Mégaloblastes	1 %

dont un avec noyau en kinèse, anisocytose avec macrocytes pâles, microcytes et quelques poikilocytes.

On remarque donc que nous saisissons à cette date une phase d'activité hématopoïétique malgré l'anémie : témoin les normoblastes et le taux assez anormal de 2,5 % de réticulocytes. De plus, les mégakaryoblastes sont typiques : gros noyau vacuolaire, à réseau chromatinien lâche, apparaissant boursoufflé.

On fait une résistance globulaire : résultat normal :

Sang total	H ¹ —44	H ² —38
Sang déplasmatisé	H ¹ —48	H ² —40
Groupe sanguin	IV	

Les 4 et 5 nov. la malade absorbe 200 gr. de foie de veau, on lui apprend à le préparer, à le déguiser, et elle promet de continuer le traitement.

Le 6 nov. la formule sanguine est la même que le 3, mais 2 % de réticulocytes et 4 normoblastes pour 100 gl. bl.

Le 27 mai 1931 la malade revient passer quelques jours dans le service du Prof. Noël FRIESSINGER à la Charité. La lettre de notre confrère qu'elle nous transmet résume la phase nov. 1930-mai 1931.

« Le résultat du traitement de Whipple (que vous avez réussi à lui

faire adopter) a d'abord été remarquable. Mais depuis 6 semaines les troubles de la marche se sont accentués. Depuis 15 jours, elle est de nouveau rebelle à l'ingestion de foie de veau. »

En effet à l'examen, la pâleur subictérique frappe au premier abord. La démarche est nettement ataxique, la malade lance les jambes en avant. Il existe maintenant une trépidation épileptoïde du pied, et perte du sens sténéognostique. Tous les autres appareils sont normaux, rate, foie, poumons. Souffles anémiques comme précédemment. Examen de sang le 30 mai :

Gl. r.	1.485.000
Gl. bl.	2.000
Hémogl.	30 %
Rétic.	0
Polys neu.	51 °
Polys éos.	2 °
Gd. monos . . .	2 %
Moy. monos . . .	8 %
Lymphos	37 °
Normobl.	0 °

Nous nous demandons si la maladie a évolué vers l'anémie aplas-tique, car ni par la coloration supravitale, ni par la méthode de Pappenheim ne peut-on découvrir une seule hématie réticulo-granuleuse.

Du 31 mai au 6 juin elle arrive à supporter l'ingestion de 150 gr. de foie de veau cru par jour. L'amélioration sanguine se fait à vue d'œil.

Le 3 juin on note :

Gl. r.	1.772.000
Gl. bl.	3.000
Hémogl.	34 °
Rétic.	1,4 %

La formule qualitative n'a pas changé. La substance granulo-fila-menteuse des réticulocytes est peu dense, surtout composée de fila-ments épars.

Des vomissements à la suite d'ingestion de foie nous font changer de tactique : on administre de l'Estomon, 1 à 3 tubes par jour. Le 13 juin on trouve :

Gl. r.	1.485.000
Gl. bl.	5.000
Hémogl.	36 %
Rétic.	4,9 %
Polys neu.	38 %
P. éos.	0 %
Gd. monos	2 %
Moy. monos	40 %
Lymphos	20 %
Myélos neu.	0,3 %
Normobl.	0 %

Elle nous quitte le 17 juin, présentant encore un mauvais état général ; le pronostic est sévère. Elle ne meurt cependant que fin août 1931, en état de cachexie et de paralysie avancée.

Notons en passant que c'est la première fois que nous avons expérimenté l'« Estomon » (poudre de muqueuse stomacale desséchée) et ce médicament a semblé continuer efficacement la régénération sanguine mise en train par le foie de veau.

L'étiologie de la deuxième observation de ce type gravite également autour d'ennuis et de deuils ; revers de fortune, mort du mari, changement de situation sociale.

Obs. V. — Ce qui frappe le plus à l'examen de cette malade (M^{me} Phil...), ce sont les œdèmes énormes des membres inférieurs, infiltrant même les flancs. Œdèmes non dépressibles, non accompagnés d'albuminurie ni d'azotémie. Le teint jaune pâle, les souffles oculaires et cardiaques anorganiques, la T. A. basse (10 1/2-6 1/2), l'examen de sang à valeur globulaire au-dessous de 1 nous font penser à une anémie secondaire. C'est en vain que l'on cherche un néoplasme : rien au toucher vaginal et rectal, rien à la radiographie tant de l'intestin que de l'estomac. Tubage gastrique, pas d'HCl libre. On verra que cette malade a réagi au traitement de Whipple par une crise réticulocytaire typique et l'apparition de normoblastes dans le sang circulant, tandis que le taux des hématies se relevait progressivement. Mais l'hémoglobine augmenta plus régulièrement, et à un moment donné on trouve la V. G. > 1 .

Sous nos yeux, un syndrome neuro-anémique s'installe, malgré l'amélioration de l'état général. Le 21 juin on note une anesthésie de la région plantaire gauche qui se précise peu à peu. La malade nous

quitte le 20 juillet, présentant encore de l'anémie au-dessous de 3 millions et du steppage très net.

Sa fille nous annonce sa mort en octobre 1930, par « paralysie » dit-elle. La malade aurait discontinué le traitement par le foie cru depuis fin août.

L'achylie gastrique que l'on observe si souvent au cours de l'anémie pernicieuse de Biermer a donné lieu à de nombreuses recherches en vue d'améliorer l'état des malades par administration d'HCl dilué, après les repas. Les résultats n'étaient pas très satisfaisants, non plus que ceux obtenus par un mélange d'HCl + pepsine.

CASTLE, en 1929, essaye la méthode suivante : ingestion de viande de bœuf, prédigérée *in vitro* avec du suc gastrique humain normal. Il observe à la suite de ce traitement une crise réticulocytaire nette, suivie d'augmentation du chiffre des gl. r. et de l'hémoglobine. Peu de temps après la découverte de cette nouvelle thérapeutique, STURGIS et SISAACS rapportent trois cas d'anémie pernicieuse, où ils ont obtenu une amélioration notable tant du tableau clinique que du tableau hématologique, en faisant ingérer à leurs malades 30 gr. par jour de poudre d'estomac desséché. Il s'agissait d'une préparation de muqueuse stomacale de porc, dont 30 gr. correspondent à environ 190 gr. de tissu frais.

En Europe, le « Ventraemon », fabriqué en Hollande, est basé sur le même principe. SNAPPER et ses collaborateurs observent des crises réticulocytaires s'élevant à 10 % de r. peu de jours après le début du traitement par le Ventraemon. Il s'agissait de cas typiques d'anémie de Biermer.

En Allemagne, ROSENOW rapporte deux observations très convaincantes, quoique peu détaillées au point de vue clinique, où le Ventraemon lui a donné d'excellents résultats.

OBS. VI. — Malade de 54 ans, anémie pernicieuse typique avec mégalocytose, V. G. très élevée, achylie).

Gl. r.	1.750.000
Rétic.	0,5 %

OBSERVATION V.

Date	Gl. Rouges	Gl. Blancs	Hém.	Rétic.	P. Neu	P. éos.	P. bas.	Gd. M.	Moy. M.	Lym.	Myé. Neu	Nor. mobil.	Mégalo	
12 juin ...	1.840.000	7.200	22 %	0,6	86	0	2	2	6	4	0	0		M ^{me} Phil., 51 ans. 250 gr. foie de veau p. jour
13 juin ...	1.810.000	7.500	—	1,5										
15 juin ...	1.800.000	5.800	26 %	7 %										
17 juin ...	1.570.000	6.000	—	12 %	72	1	2	2	2	20	0	0	0	
21 juin ...	1.450.000	4.800	25 %	2,5 %	70	2	3	5	4	14	2	0		
24 juin ...	1.565.000	9.000	27 %	4 %	66	1	2	4	17	10	2	1,5 %	Gl. bl.	
26 juin ...	1.590.000	4.500	—	1 %										
27 juin ...	1.553.000	3.700	30 %	1 %	67	1	1	7	19	10	0	4 %	1 %	
30 juin ...	1.900.000	1.660	35 %	2 %	69	1	1	8	6	15	1	2		
3 juillet ...	2.250.000	6.000	35 %	1										
5 juillet ...	2.500.000	6.700	»	2 %										
8 juillet ...	2.570.000	7.000	45 %	5 %	74	2	1	2	19	1	Turk	1		
17 juillet ...	2.370.000	2.000	41 %	3 %	70	1 %	0	4	17	8	1 %	0		Foie remplacé par Hépar-mone.
24 juillet ...	1.850.000	3.700	44 %	0,3										Reprise de foie 250 gr. par jour.

Reçoit 30 gr de Ventraemon par jour, délayé dans du bouillon tiède. Le 7^e jour du traitement on note :

Gl. r.	2.450.000
Rétic.	18 %

C'est le sommet de la courbe réticulocytaire. Le 16^e jour, les réticulocytes sont retombés à 1 %, mais le chiffre des hématies augmente encore régulièrement.

Là 2^e malade, âgée de 74 ans présentait en outre un syndrome neuro-anémique prononcé (funikulaëre myelose). A l'entrée dans la clinique, elle a :

Gl. r.	1.040.000
Hémogl.	30 %
Rétic.	0,8 %

Même traitement que la précédente, 30 gr. Ventraemon par jour. Le sommet de la crise réticulocytaire s'observe le 13^e jour après le début du traitement.

Gl. r.	2.400.000
Hémogl.	50 %
Rétic.	9 %

Il semble bien, qu'antérieurement à l'administration de poudre d'estomac desséché, ces malades n'avaient pas été traitées pour leur anémie, ni par le Fe, ni par la méthode de Whipple.

Enfin, une observation fort intéressante qui apporte une confirmation précieuse à ces nouvelles recherches a été présentée par LAMBIN et STEENHOUT à la Société médicale des Hôpitaux de Paris, en 1930.

OBS. VII. — Il s'agit d'une malade de 35 ans, présentant une anémie de Biermer typique, avec le teint pâle, jaunâtre caractéristique, une glossite, une valeur globulaire élevée. Aucun trouble nerveux et pas de grosse rate. Au 1^{er} examen on trouve :

Gl. r.	1.130.000
Hém.	40 %
V. G.	1,77
Rétic.	2,7 %

Dans les étalements de sang coloré, on note la présence d'érythroblastes et de mégalo blasts (1 pour 300 gl. bl.).

Les auteurs font préparer pour cette anémique, deux extraits différents d'estomac desséché. L'un ne contient que de la poudre de muqueuse, l'autre contient uniquement de la poudre de musculuse. Voici le traitement et les résultats, que nous résumons.

1^{re} semaine :

40 gr. de poudre de muqueuse, au cours du repas du soir végétarien. Le 7^e jour de cette thérapeutique on trouve :

Gl. r.	940.000
Réticulocytes	7,3

Bien entendu, l'observation comporte des numérations quotidiennes, ainsi que de fréquentes évaluations de la bilirubinémie et de la cholestérinémie.

2^e semaine :

40 gr. de poudre de muqueuse, en 2 prises de 20 gr. accompagnées chacune, d'ingestion de 100 gr. de viande de bœuf. Le 17^e jour après le début de tout traitement le sang présente :

Gl. r.	1.214.000
Réticulocytes	17,3 %

3^e semaine :

60 gr de poudre de musculuse dans du bouillon de légumes. A la fin de la semaine :

Gl. r.	1.230.000
Réticulocytes	5 %

4^e semaine :

5 à 8 tubes par jour d'Exhepa, extrait de foie fabriqué au Danemark, dont 1 tube correspond à 100 gr. de foie cru. Poussée considérable de réiculcytes à la fin de cette semaine, et augmentation lente du taux des hématies. Le 31^e jour elle a :

Gl. r.	1.670.000
Réticulocytes	20,8

5^e semaine :

La malade absorbe 250 gr. de foie cru par jour. Les gl. r. s'élèvent à 2.070.000 et les réticulocytes montent à 33 %. A sa sortie de la

clinique (38^e jour de traitement en tout), on constate une grande amélioration de l'état général et une forte diminution de la bilirubinémie.

Il est intéressant de noter combien cette histoire confirme les données de MINOT et MURPHY en ce qui concerne la puissance de régénération de la moelle sous l'action de doses maximum de foie cru, après divers traitements à doses insuffisantes.

Citons encore une observation personnelle pour terminer cette série d'anémies de Biermer.

OBS. VIII. — M^{me} Guis..., 45 ans, entre à la Maison de Santé municipale le 22 sept. 1930 pour anémie, essoufflement, fatigue et fièvre. La maladie remonte à environ un an, car déjà en 1929, après une période d'ennuis et de surmenage, la malade remarque son teint pâle, jaunâtre, des vertiges et de l'essoufflement, ainsi que des fourmillements et engourdissements dans les extrémités. Amaigrissement de 5 kilos.

A l'examen, on ne trouve aucune lésion organique, poumons, foie, rate normaux, pas d'adénopathies, urines normales. Souffle anorganique au cœur, souffles jugulaires, mais pas de souffles oculaires. Les réflexes sont vifs, mais la malade accuse une diminution de la sensibilité plantaire, dit avoir la sensation « de marcher sur des ressorts à boudin », présente une ébauche de steppage à la marche prolongée.

Hémoculture négative. Tubage gastrique sans acide HCl libre.

L'examen de sang révèle à l'entrée (23 sept.) :

Gl. r.	1.000.000
Gl. bl.	4.000
Hémogl.	40 %

On commence immédiatement le traitement par le foie de veau, en raison de 200 gr. de pulpe de foie cru par jour. Le 27 sept. on note :

Gl. r.	1.200.000
Gl. bl.	4.000
Hémogl.	37 %
Réticulocytes	4,7 %

La formule des éléments figurés est typique d'anémie pernicieuse.

Polys neu.	27 %
Lymphos	56 %
Normoblastes	4 %
Mégalo blastes	2 %

anisocytose, poikilocytose marquées.

Les progrès de la formule sanguine sont manifestes le 2 octobre.

Gl. r.	1.510.000
Gl. bl.	5.500
Hémogl.	39 %
Réticulocytes.	6 %

Il semble bien que le 2 ou le 3 oct. ait eu lieu le sommet de la courbe réticulocytaire, car le 4 oct. on note :

Gl. r.	1.580.000
Gl. bl.	5.800
Réticulocytes	5,4 %

Dès lors, la malade se sent le courage d'absorber 600 puis 500 gr. de pulpe de foie cru mélangé le matin à du potage, à midi à des légumes en purée et le soir en sandwich mêlé à du beurre d'anchois, donc en doses fractionnées tri-quotidiennes de 200 gr.

Le 6 oct. l'examen de sang présente :

Gl. r.	1.440.000
Gl. bl.	7.000
Hémogl.	44 %
Réticulocytes	4,1 %

Dans la formule leucocytaire on trouve :

Polys neu.	57 %
Lymphos	28 %

Il persiste encore 3,5 normoblastes pour 100 leucocytes. On trouve un mégalo-blaste typique sur un frottis. L'anisocytose avec macrocytes pâles n'a pas changé, mais il y a bien moins de globules rouges déformés en raquettes : poikilocytes. L'effet des très fortes doses de foie de veau ne se fait pas attendre. Tout comme dans les observations de MINOT et MURPHY, la dose maxima administrée après une quantité de foie sub-maxima, va déclencher chez cette malade, une nouvelle poussée réticulocytaire très élevée. Très frappé par l'abondance des hématies réticulées sur les préparations post-vitales (12 % de rétic.) nous les contrôlons par des préparations hémolysées traitées selon la technique de Pappenheim. On trouve 11 % de réticulocytes, c'est-à-dire d'hématies granuleuses. Ce jour, le 10 oct. la formule se présente ainsi :

Gl. r.	2.030.000
Gl. bl.	6.500
Hémogl.	45 %
Réticulocytes.....	11,5 %

L'équilibre leucocytaire n'a pas varié, l'augmentation des polynucléaires se maintient (60 %), il y a 1 % de métamyélocytes ; on trouve 3 % de normoblastes, mais encore 1 % de mégalo blastes, dont les noyaux sont en pyknose avec amas chromatiniens ratatinés.

Nous permettons à la malade de revenir à 200 gr. de foie de veau par jour, elle va nous quitter très améliorée le 14 oct., nous promettant de continuer son traitement. La veille de son départ, l'examen de sang révèle :

Gl. r.	2.500.000
Gl. bl.	8.000
Hémogl.	62 %
Réticulocytes	5,5 %

L'équilibre leucocytaire présente une légère éosinophilie, syndrome classique accompagnant le traitement de Whipple.

Polys neu	56 %
Polys éos.	5 %
Polys basos.....	1 %
Gd. Monos.....	4 %
Moy. monos	19 %
Lympho.	22 %
Métamyélos	0 %
Normobl.	0
Mégalobl.	0
Anisocytose	+
Poikilocytose	0
Polychromatophilie	0

Passons maintenant aux anémies secondaires ; nous envisagerons d'abord celles d'origine hémorragique.

Anémies secondaires par hémorragies

Nous possédons un nombre considérable d'observations où une anémie secondaire due à de petites hémorragies répétées a

provoqué l'apparition d'un taux élevé de réticulocytes dans le sang circulant. En voici quelques exemples.

OBS. IX. — M^{lle} Plat..., 17 ans, entre à la Maison de Santé municipale, le 22 mars 1930. Elle arrive, portée sur un brancard, dans un état sub-syncopal.

Ses premières règles ont apparues à 15 ans, normales d'abord, puis irrégulières depuis un an. Elle n'a cessé de perdre du sang depuis le 15 janvier 1930, l'hémorragie est peu intense mais continue.

A l'examen, malade très pâle, à teint verdâtre ; ses muqueuses sont décolorées. Tous les organes semblent normaux. Pas de splénomégalie, pas de gros foie, pas d'adénopathies. Rien au cœur, mais souffles jugulaires anémiques, T. A. 5-1,2 1/2. Temps de saignement 2 1/2. Temps de coagulation 4'. Pas de signe du lacet. On ne peut faire d'examen gynécologique à cette jeune fille. Le sang présente : (v. tableau ci-après).

Le traitement consista en compresses chaudes laudanisées sur le ventre, injections chaudes, et dans l'alimentation, 100 gr. de foie de veau cru par jour.

La réponse réticulocytaire ne se fait pas attendre. Quoique le taux initial des réticulocytes atteigne 7 %, nous trouvons 12 % rétic. dès le 4^e jour du traitement. Le 10^e jour de celui-ci, l'augmentation des globules rouges et de l'hémoglobine sont manifestes, comme le tableau le montre. Les réticulocytes sont tombés à 3 %.

La malade nous quitte alors. Ses règles reviennent normales, le 15 mai. La semaine suivante nous revoyons notre ancienne malade. Son sang est normal, mais présenté le 18 mai encore 3 % de réticulocytes.

Nous ne trouvons plus que 0,5 % de réticulocytes 4 jours après les règles du mois de juin. Récemment, on nous informe que cette jeune fille est en excellente santé et réglée normalement.

Que nous apprend cette observation ? Simplement ceci : le foie de veau n'a provoqué qu'une augmentation de 5 % de réticulocytes (c'est-à-dire de 7 % à 12 %) au cours d'une anémie intense (2.100.000) mais d'origine *secondaire*. C'est une nouvelle confirmation des faits constatés par MINOT et MURPHY au cours de leurs expériences devenues classiques.

L'observation suivante rentre elle aussi dans le cadre des ané-

Dates	Gl. Rouges	Gl. Blancs	Hém.	Rétic.	P. Neu	P. éos.	P. bas.	Gd. M	Moy. M	Lym	Myé. Neu.	Méta-myé.	Nor-mobl.	Observ.
22 mars ..	2.100.000	16.000	34 %	7 %	69	1	0	3	9	13	4	1	0	
25 mars ..	2.400.000	9.500	35 %	12 %	47	0	0	1	25	24	3			
28 mars ..	3.300.000	6.000	38 %	11 %	58	1	0	6	32	3				
1 ^{er} avril ..	3.700.000	7.200	45 %	5 %	78	1	1	2	13	5			1	
18 mai ...	3.900.000	7.000	47 %	3 %										Règles, 15 mai
20 juin ...	3.780.000	4.100	70 %	0,5 %	66	7	0	2	21	4	0	3		Règles, 16 juin

mies secondaires, où le traitement par la méthode de Whipple a contribué à la régénération sanguine, à la guérison du syndrome hématologique.

OBS. X. — M^{me} Vasq..., 38 ans, présente une anémie grave, à la suite de métrorragies répétées dues à une métrite. Elle présente des souffles jugulaires, un souffle anorganique cardiaque ; les autres appareils sont normaux, particulièrement le foie, la rate, et l'appareil digestif. Pas de fièvre. Pas d'adénopathies. Le sang présente le 13 juin 1929, trois mois après le début des métrorragies :

Gl. r.	3.190.000
Gl. bl.	10.000
Hémogl.	60 %
Rétic.	2 %

Dans la formule leucocytaire, aucun élément pathologique, pas de normoblastes, mais une éosinophilie à 5 %. Poikélocytose très marquée, anisocytose avec macrocytes pâles, légère polychromatophilie.

La malade ne veut se soumettre à un curetage, on la traite par la radiumthérapie. Le 18 juin, on note :

Gl. r.	3.405.000
Gl. bl.	4.500
Hémogl.	45 %
Rétic.	2 %

Cette réticulocytose est due à un effort spontané de la moelle osseuse tendant à réparer les pertes sanguines, peu importantes mais persistantes depuis longtemps. Le 18 juin, la malade commence le traitement par le foie de veau dont elle ingère 150 gr. par jour. La crise réticulocytaire est en train de se constituer quand nous faisons l'examen de sang le 25 juin :

Gl. r.	3.150.000
Gl. bl.	4.600
Hémogl.	42 %
Rétic.	4 %

Dans la formule qualitative on trouve 8 % d'éosinophiles, mais autrement une composition normale.

Peu docile, la malade quitte la Maison de santé le 3 juillet, présentant à cette date :

Gl. r.	3.750.000
Gl. bl.	7.000
Hémogl.	50 %
Rétic.	2 %

La lésion de la muqueuse utérine est guérie à ce moment et ne saigne plus. L'état général est encore précaire. Néanmoins la malade cesse l'ingestion de foie de veau. Le 10 juillet, elle part pour Brides-les-Bains. Ce jour le sang présente :

Gl. r.	3.590.000
Gl. bl.	4.500
Hémogl.	52 %
Rétic.	0,5 %

L'observation est assez banale, mais typique de l'action stimulatrice qu'exerce le traitement de Whipple sur la moelle osseuse même au cours d'anémies secondaires. Mais cette action est incomparablement moins intense que dans les anémies progressives, à type cryptogénétique et pernicieux, autant que nous pouvons en juger par le comportement des réticulocytes.

Au cours d'une anémie aiguë par hémorragie nous avons observé un taux extrêmement élevé de réticulocytes. Ce cas reproduisait les anémies expérimentales sur lesquelles les auteurs américains ont étudié la régénération sanguine sous l'action de divers régimes.

OBS. XI. — M^{me} Gie..., 35 ans, a présenté un épistaxis abondant persistant pendant 5 jours, survenu sans cause apparente et sans autres symptômes. Sans que l'on puisse trouver dans ses antécédents personnels un véritable syndrome d'hémogénie, on peut supposer que sa tendance à saigner facilement soit attribuable à une méiopragie vasculaire d'origine hépatique. Vomissements biliaires, troubles digestifs, ictère sans coliques hépatiques, avec décoloration des matières et urines foncées témoignent d'un trouble hépatique datant de plusieurs années.

Le 1^{er} juillet 1929, à l'examen, on trouve un foie un peu augmenté de volume, pas de splénomégalie, pas d'adénopathie. T. A. 10 1/2-5.

B.-W. négatif. Autres appareils normaux. Dosage d'urée 0 gr. 35 et 0 gr. 32 d'urée par litre de sang. Temps de saignement 4' 1/2. Temps de coagulation 9'. Signe du lacet +. Résistance globulaire sur sang déplasmatisé. H_1 26 H_2 40.

Nous résumons en un tableau les examens de sang successifs montrant que le fait de perdre une quantité importante de sang a déterminé l'apparition d'une réticulocytose élevée.

L'épistaxis avait débuté le 30 juin ; un tamponnement effectué le 1^{er} juillet n'avait pas empêché le sang de couler en arrière, vers le pharynx, il fut vomi, on crut un moment qu'il s'agissait d'une hématomèse. Tout le processus était comparable à une très abondante saignée : celle-ci stimula (comme chez tous les sujets normaux) la régénération sanguine. Dès le 3 juillet (9^e jour de l'hémorragie) on note déjà 18 % réticulocytes avec une anémie de 1.850.000 gl. r., 44 % d'hémogl. et une leucocytose de 35.000 gl. bl. Cette leucocytose post-hémorragique ne présentait, morphologiquement aucun caractère pathologique se composant de 78 % de polynucléaires et aucune cellule embryonnaire..

Le 5 juillet, les normoblastes apparaissent, on en trouve 1 % de gl. bl., tandis que les réticulocytes se maintiennent à 16 %.

Le 14 juillet, la poussée réticulocytaire est terminée, il n'en reste que 1 % dans le sang circulant. Le taux des hématies s'est relevé à 2.470.0000 gl. r., l'hémoglobine chiffre, au contraire, 27 %. On administre du foie de veau cru à la dose de 150 gr. par jour, déjà depuis le 9 juillet. Ce traitement n'a pas empêché la chute précoce de la courbe des réticulocytes, qui étaient en décroissance depuis la réparation spontanée de l'anémie. Mais les jours suivants, c'est-à-dire les 16, 18, 19 juillet, les réticulocytes subissent une nouvelle poussée, due à l'action du foie de veau cru ; elle atteint son acmé le 19 juillet avec 7,7 % de réticulocytes, c'est-à-dire le dixième jour après le début du traitement. Ce n'est qu'à partir de ce moment que le taux des globules rouges s'accroît définitivement.

La malade nous quitte le 24 juillet ; la veille, son examen de sang révélait :

Gl. r.	2.505.000
Gl. bl.	6.000
Hémogl.	30 %
Rétic.	0,2 %

Nous la revoyons le 11 oct. 1929, en excellent état général, ayant engraisé de plusieurs kilos. Le sang montre :

Gl. r.	4.820.000
Gl. bl.	7.000
Hémogl.	54
Rétic.	0,3 %

et une formule morphologique normale.

Parmi les nombreuses observations de réticulocytoses consécutives à des hémorragies du tractus digestif que nous possédons, nous choisirons un exemple typique pour chaque série.

Les anémies secondaires dues à des hémorragies des voies digestives d'origine non cancéreuse se réparent comme les anémies expérimentales par une crise réticulocytaire. Ainsi :

OBS. XII. — M^{lle} Bri..., 27 ans, ulcère du duodénum, hématomèse abondante le 27 février 1930. Le lendemain :

Gl. r.	2.100.000
Gl. bl.	11.500
Hémogl.	37 %
Rétic.	1 %

Nous suivons la régénération sanguine par des examens tous les deux jours. Le sommet de la crise réticulocytaire a lieu le 6 mars.

Gl. r.	1.920.000
Gl. bl.	9.000
Hémogl.	31 %
Rétic.	7,4 %

La régénération n'est pas activée par l'ingestion de foie de veau dont l'administration paraît dangereuse avec une muqueuse gastrique qui saigne.

Le 15 mars, on note :

Gl. r.	2.850.000
Gl. bl.	7.000
Hémogl.	35 %
Rétic.	1,7 %

Enfin le 20 mars, on envoie cette malade en chirurgie, suffisamment améliorée pour être opérée. Le sang présente :

OBSERVATION XI.

Dates	Gl. Rouges	Gl. Blancs	Hém.	Rétic	P. Neu.	P. éos.	P. bas.	Gd. M.	Moy. M.	Lym	Myé Neu	Méta-myé.	Turek	Nor-mobl.	Mégatobl.
3 juill. 1929	1.850.000	35.200	44 %	18 %	78	0	0	4	5	13	0				
5 —	2.010.000	27.000	30 %	16 %	74	6	0	1	2	12	3	1	0		
7 —	1.900.000	20.000	28 %	16 %			0								
9 —	1.800.000	24.000		9 %	60	3	0	5	1	3		3	1	5	
12 —	1.570.000	18.000	25 %	5 %	62	4	0	5	4	5		5	2	1	
14 —	2.470.000	12.000	27 %	1 %	71	6	0	1	3	1		1			
16 —	2.100.000	10.000	20 %	4 %	68	8	1 %	2	4	1		1	0		
18 —	1.600.000	12.000	20 %	5 %			0								
19 —	1.950.000	15.200	22 %	7 %	77	0	2 %	3	5	13		0	0		
21 —	2.200.000	8.000	20 %	4 %	66	2	0	2	2	22		3	0		
23 —	2.505.000	6.000	30 %	0,2 %	57	7	2 %	5	5	17		6	0		
11 oct. 1931.	4.820.000	7.000	54 %	0,3 %	70	3	0	2	2	18		0	0		

Gl. r.	3.100.000
Gl. bl.	4.700
Hémogl.	45 %
Rétic.	1 %

Dans trois observations analogues les courbes réticulocytaires furent superposables à celle ci-dessus. La perte de sang seule déterminait la régénération, la méthode de Whipple n'étant point appliquée dans ces cas.

La réparation sanguine ne semble pas entravée par l'état bacillémique au cours de la fièvre typhoïde. Connaissant le taux peu élevé de polynucléaires à la période d'état de cette maladie, on pourrait s'attendre à ce que la moelle osseuse réagisse mal à l'occasion d'une hémorragie intestinale par exemple. Il n'en est rien, comme le montre l'observation suivante :

Obs. XIII. — M. Ra..., 27 ans, fièvre typhoïde à Eberth.

Hémorragie intestinale le 12^e jour, le soir le sang présente (18 oct. 1931) :

Gl. r.	2.450.000
Gl. bl.	2.700
Rétic.	0,07 %
Hémogl.	49 %

Le 20 octobre, le malade est pâle, hypotendu, l'hémorragie est arrêtée :

Gl. r.	2.700.000
Gl. bl.	4.000
Rétic.	0,1 %

Le 22 oct. on note :

Gl. r.	3.120.000
Gl. bl.	3.000
Retic.	4,1 %

Le surlendemain, le sang présente :

Gl. r.	3.240.000
Gl. bl.	3.800
Rétic.	1,5 %
Hémogl.	45 %

L'amélioration continue. Le 30 oct. on trouve :

Gl. r.	4.050.000
Gl. bl.	7.500
Rétic.	0,2 %

Il nous semble qu'ici la crise réticulocytaire a été fugace et que nous en avons justement saisi un des points élevés de la courbe.

Enfin le 3 nov. le malade n'a définitivement plus de température et peut s'alimenter.

Gl. r.	4.450.000
Gl. bl.	7.000
Rétic.	0,05 %

Anémies secondaires non post=hémorragiques (toxiques)

Avant que la méthode de Whipple soit appliquée aux anémies pernicieuses, on traitait celles-ci par une thérapeutique mixte arsenicale-ferrugineuse, observant de temps à autre des rémissions. Dans l'observation que nous allons rapporter maintenant le mécanisme de l'action du novar était tout autre : il s'agit en effet d'une anémie syphilitique, donc secondaire.

OBS. XIV. — Le malade, M. Her..., âgé de 26 ans, contracte pendant son service militaire une syphilis, traitée immédiatement (il ne précise pas la nature de la substance injectée dans ses veines). Après 4 mois, il abandonne tout traitement.

Pendant 5 ans sa santé est apparemment parfaite. Le 1^{er} juin 1931, il consulte un médecin pour les troubles suivants, qui ont apparu insidieusement depuis 2 mois : dyspnée d'effort, puis dyspnée permanente, syncopes, vertiges, instabilité à la marche, tachycardie. Le malade est d'une pâleur verdâtre, présente une rate palpable, et des troubles digestifs mal précisés.

Il entre à la Charité dans le service du Prof. Noël FIESSINGER le jour même (1^{er} juin 1931). L'examen confirme les données du médecin consulté. De plus T. A. 11-6, pas d'albuminurie, pas de fièvre. Examen de sang le 2 juin :

Gl. r.	3.050.000
Gl. bl.	5.000

Hémogl.	35 %
Rétic.	4,25 %
Poly. neu.	66 %
Poly. éos.	2 %
Gd. monos	5 %
Moy. monos	18 %
Lymphos	10 %
Normoblastes (pour 100 gl. bl.) ..	0,3

Voici donc une formule plastique quant à la série rouge, avec déjà 0,3 normoblastes et 4,25 de réticulocytes, dont la substance granulo-filamenteuse est abondante, pelotonnée, à réseau dense. Aucune réaction myéloïde de la série blanche. Le 4 juin, on lui administre 30 cgr. de novar.

Le 9 juin, la formule sanguine est la suivante :

Gl. r.	2.680.000
Gl. bl.	2.000
Hémogl.	40 %
Rétic.	3,1 %
Polys neu.....	64 %
P. éos.	2 %
P. baso	1 %
Gd. monos	1 %
Moy. m.....	21 %
Lym.	7 %
Métamyélos	1 %
My Neu	2 %

On trouve 1 normoblaste dans le frottis coloré. Dès le lendemain on institue le traitement par le foie de veau cru, haché, dissimulé dans de la purée de marrons, à raison de 150 gr. de foie par jour.

Le malade se plaint de picotements sur la langue les jours suivants : elle est effectivement lisse, décapillée. C'est la seule fois que nous ayons vu ce syndrome si souvent décrit dans les anémies de Biermer vraies. Examen de sang le 13 juin 1931, lendemain de 0,45 novar.

Gl. r.	2.800.000
Gl. bl.	2.200
Hémogl.	37 %
Rétic.	2,7 %

Formule leucocytaire normale sans normoblastes. Le 26 juin on note :

Gl. r.	2.950.000
Gl. bl.	4.200
Hémogl.	34 %
Rétic.	3 ‰
Poly. neu.	74 %
Poly. éos.	3 ‰
Poly. baso.	1 ‰
Gd. monos	5 ‰
Moy. monos	10 %
Lym.	5 %
My. neu.	2 %
Normobl.	0

Le 17 juin 0,60 de novar sont bien supportés. Le médecin du malade continue le traitement en ville.

On nous apprend qu'en octobre 1931, le malade va bien, mais est toujours très pâle et fatigué rapidement.

Dans un cas de purpura au cours d'une intoxication arsénobenzolique la réparation sanguine s'est faite sans crise réticulo-cytaire nette. Voici l'observation :

OBS. XV. — M^{me} Dum..., 32 ans, traitée pour une spécificité, dès 1927, entre dans le service du Prof. Noël FIESSINGER le 7 février 1932 pour épistaxis et purpura. Ces accidents sont survenus au cours de la dernière série de piqûres, 0,60 d'arsénobenzol. L'épistaxis n'a pas été abondant. Le purpura se présente sous forme de taches punctiformes, couvrant les membres inférieurs et les avant-bras. Signe du lacet positif. Temps de saignement 4'. Temps de coagulation 10'.

Pas de signes d'insuffisance hépatique. Examen somatique normal, sauf les réflexes achilléens et rotuliens, abolis à gauche. Le sang présente, 8 mars 1932 :

Gl. r.	2.265.000
Gl. bl.	1.700
Rétic.	0,02 %
Poly neu.	68 %
Poly éos.	1 %

Gd. monos	9 %
Moy. monos	16 %
Lympho	15 %
Myélo neu.....	1 %

Il est intéressant de constater que malgré la leucopénie il n'y a pas neutropénie (agranulocytose).

Le 10 mars le sang présente la formule suivante :

Gl. r.	3.300.000
Gl. bl.	3.500
Rétic.	0,01 %
Poly neu.	40 %
Poly éos.	5 %
Poly baso.....	1 %
Gd. monos	12 %
Moy. monos	27 %
Lympho.....	14 %

La malade sort sur sa demande le lendemain ; nous lui prélevons une goutte de sang au moment du départ pour les réticulocytes : on trouve 0,02 %.

L'observation suivante a déjà été publiée, avec le Prof. N. FIESINGER et Ph. DECOURT, dans *le Sang* en 1930. Il s'agit d'une anémie hémolytique aiguë type Lederer. Son intérêt réside dans l'évolution rapide vers la guérison et les stigmates sanguins particuliers.

Obs. XVI. — M^{lle} D..., employée de bureau, âgée de 44 ans, entre dans notre service le 11 mars 1930, envoyée par son médecin, le D^r VICENTE, pour une anémie avec fièvre et ictère. Jusqu'à fin février, trois semaines avant son entrée, la santé de cette malade fut parfaite, sauf une congestion pulmonaire en 1918. A cette époque son bureau est transporté dans un sous-sol sans autre éclairage que l'électricité, alors apparaissent rapidement une fatigue intense et une asthénie progressive avec cependant conservation de l'appétit. Un léger amaigrissement se produit et le soir les malléoles sont distendues par un œdème blanc et mou. Une petite épistaxis apparaît au début de mars. Malgré ces signes généraux, c'est assez brusquement, du 3 au 9 mars, qu'une céphalée occipitale se montre et qu'une faiblesse

intense nécessite un avis médical. Frappé par la pâleur, les œdèmes et soupçonnant un état fébrile, le Dr VICENTE exige le repos au lit et un régime sévère.

Quand nous voyons cette malade, elle ne se plaint que de faiblesse profonde et d'une céphalée occipitale avec bourdonnements d'oreilles. La pâleur est celle d'une anémie intense, mais la peau, de même que les conjonctives, est légèrement colorée en jaune, c'est la teinte vieil ivoire typique. Certes, cette malade est plus anémique qu'ictérique. Elle a des souffles jugulaires manifestes en toutes positions et, un souffle oculaire.

Pas d'œdèmes déclives, mais quelques ecchymoses traumatiques aux jambes.

Pas d'hémorragies. Jusqu'alors les règles ont été régulières.

L'examen somatique est pauvre en renseignements :

Rien au cœur, qu'un souffle anémique n'irradiant pas, pouls régulier, à 80. T. A. = 11 1/2-6 1/2.

39°5, 38°.

Foie de dimensions et consistance normales.

Pas d'adénopathie.

Pas de signes digestifs, sauf une légère constipation, pas d'hémorragie digestive, rien au toucher rectal.

Rien aux poumons.

Rien au niveau du système nerveux, les réflexes sont normaux.

Seul comme signe viscéral nous découvrons une splénomégalie de 10 cm. sur la ligne axillaire dans le sens vertical, de 6 cm. dans son axe horizontal de la ligne axillaire, à la pointe splénique. Cette splénomégalie est nettement accessible au-dessous du rebord costal.

Renseignements complémentaires :

Urines : ni sucre, ni albumine, urobilinurie intense.

Sang : Bordet-Wassermann : 0 ; Hecht : 0.

Réaction d'Hymans van den Bergh : directe retardée : 2,70 unités.

Résistance globulaire : Sang total : H1 = 46 ; H2 = 42. Hématies déplasmatisées : H1 = 56, H2 = 48, H3 = 44.

Hématies granuleuses : 35 à 40 %.

Le tableau ci-après montre l'évolution du nombre des globules rouges et des leucocytes.

La température pendant quatre jours oscille entre 38° et 39° qu'elle dépasse le 12 mars à 39°4 le soir, pour se maintenir à partir du 14 aux environs de 37°5 d'une façon définitive.

Pendant quelques jours l'état est stationnaire et la rate paraît augmenter de volume le 15 mai, elle mesure 10-9 cm., puis régresse lentement ; le 19 mai elle mesure 7-5 cm. et se sent à peine sous le

Dates.	14 mars	15 mars	16 mars	18 mars	20 mars	21 mars	24 mars	27 mars	7 avril	10 mai	26 juin	11 décemb
Globules rouges.....	1.300.000		1.500.000	1.200.000	1.400.000	1.520.000	1.100.000	1.805.000	1.800.000	1.510.000	3.600.000	3.702.000
Leucocytes.....	15.500		12.000	13.200	5.000	8.000	3.000	3.100	4.000	2.600	5.200	4.200
Hémoglobine.....	25 p. 100			28 p. 100	28 p. 100		30 p. 100	34 p. 100		45 p. 100	61 p. 100	64 p. 100
Réticulocytes.....	37 p. 100	11 p. 100	64 p. 100		57 p. 100		50 p. 100	27 p. 100	27 p. 100	39 p. 100	7 p. 100	1 p. 100
Equilibre leucocyt.												
Polys neutros.....	74	70	89		85	80	70	67	55	73	72	68
Polys éosinos.....	0	0	0		0	1	1	0	2	1	1	1
Polys basos.....	1	1	1		0	2	1	5	3	2	2	0
Grands monos.....	2	2	0		3	2	1	0	1	1	3	3
Moyens monos.....	13	8	2		2	9	13	12	20	20	15	25
Lymphos.....	5	0,5	5		10	6	14	16	12	2	7	3
Myélos neutros.....	1	2	2						1	1		
Turek.....			1									
Pour 100 leucocytes.												
Normoblastes.....	3 p. 100	5 p. 100			0 p. 100	0 p. 100	1 p. 100		0 p. 100 0,5 p. 100		0 p. 100	0 p. 100
Mégalo blastes.....	1				0	0						
Polychromat.....	+	+								0		
Microcytose.....	+									0		
Macrocytose.....	+								0	0	+	+

rebord costal. Ce résultat est obtenu par le traitement de Whipple à raison de 200 grammes de foie de veau cru par jour. Le malade se recoloré, mais reste encore nettement anémique quand elle quitte la maison de santé.

Nous la revoyons encore anémique le 7 avril, mais la rate n'est plus accessible ni à la palpation, ni à la percussion.

Le 10 mai, notre malade, à la suite d'un abcès d'huile camphrée-présente une rechute de son anémie, la rate est de nouveau percutable, mais on ne retrouve aucune trace d'ictère.

Le 26 juin 1930, après un séjour à la campagne, notre malade nous revient très améliorée et engraisée de 3 kgr. L'anémie a presque entièrement disparu. Les forces sont revenues.

Il n'existe pas d'albumine, mais une légère urobilinurie. La rate est encore accessible sous le rebord costal et mesure 7.8 cm.

Le 11 décembre 1930, notre malade est entièrement guérie. L'anémie a complètement disparu. Le foie et la rate ont repris des dimensions normales, mais notre malade continue à prendre deux fois par semaine 150 gr. de foie de veau. Elle pèse 65 kgr. 700.

CHAPITRE V

LA RÉTICULOCYTOSE A L'ÉTAT NORMAL ET PATHOLOGIQUE (*Suite*)

RÉTICULOCYTES DANS LES POLYGLOBULIES

Dans un cas d'érythrémie (maladie de Vaquez) nous avons trouvé une réticulocytose très élevée. Voici l'observation :

Obs. XVII. — M^{me} Plan..., 42 ans, employée de bureau, entre à la Maison de Santé municipale le 7 février 1930 pour érythrémie et subcoma.

L'épisode actuel a débuté le 30 janvier 1930 par de la céphalée et des troubles visuels dus à une congestion intense des yeux. Le 6 février elle est dans un subcoma.

A l'examen : la malade présente une teinte rouge lie de vin surtout marquée à la face, aux bras et aux mains. Les yeux sont injectés, il existe une circulation veineuse rouge aux pommettes.

La rate est grosse et dure, dépassant le rebord costal de trois travers de doigts ; le foie est augmenté de volume. L'appareil cardiovasculaire est normal, le pouls irrégulier ; urines sans éléments anormaux.

La respiration est accélérée, mais sans véritable dyspnée, rien aux poumons.

Le 10 février, apparaît une albuminurie massive, il y a incontinence d'urine ; hyperéflexie à gauche, La ponction lombaire ramène un liquide clair non hypertendu, 1 leucocyte par mmc. Un dosage d'urée dans le sang révèle l'absence d'azotémie. La malade succombe le 13 février.

La famille de la malade nous apprend que celle-ci a présenté une

coloration rouge des téguments depuis 8 ans, elle a eu 2 fausses couches et 2 enfants bien portants.

Ni ses sœurs ni ses enfants présentent une érythémie.

L'examen histologique du foie, de la rate et de la moelle osseuse montre une congestion intense. La moelle sternale est bourrée de normoblastes et présente de nombreuses cellules-souches. Le 8 février, l'examen de sang montrait :

Gl. r.	7.100.000
Gl. bl.	8.000
Hémogl.	91 %
Rétic.	6,2 %

L'équilibre leucocytaire était le suivant :

Poly neu.	92 %
Poly éos.	0 %
Gd. mono.	2 %
Moy. mono.	2 %
Lym.	4 %

On ne trouve ni myélocytes ni normoblastes.

Nous n'avons pu effectuer la résistance globulaire, à cause de circonstances indépendantes de notre volonté, mais l'hémolyse se produisit difficilement et lentement dans le tube de Gowers, avec de l'eau distillée.

Le taux de 6,2 % de réticulocytes ne nous surprend point, étant donné l'extrême activité de la moelle osseuse, s'exerçant exclusivement dans la série rouge en cette observation.

Nous possédons aussi une observation d'intoxication passagère par l'aniline, avec réticulocytose, sans anémie.

OBS. XVIII. — M. J..., 35 ans, coupeur dans un grand magasin, présente subitement dans la soirée du 9 mars 1932 une cyanose tellement accentuée que craignant des accidents cardiaques on le fait transporter à l'hôpital en ambulance. Subjectivement le malade ne ressent aucun symptôme alarmant sauf une grande lassitude. Ni dyspnée, ni tachycardie.

A l'examen on ne trouve rien d'anormal au cœur, ni aux poumons, ni au système nerveux. T. A. : normale, pas d'albuminurie. L'interrogatoire révèle le fait suivant : le malade a mis le matin même des souliers qu'il avait fait teindre en noir la veille ; ces souliers exha-

laient encore une forte odeur de vernis (aniline). Sans traitement, la cyanose a disparu le lendemain, ainsi que la fatigue. L'examen de sang révèle :

Gl. r.	5.240.000
Gl. bl.	4.300
Hémogl.	87 %
Rétic.	2,7 %

Pas d'érythrocytes ponctués. Anisocytose légère avec macrocytes.

Poly neu.	68 %
Poly éos.	2 %
Poly baso.	0
Gd. monos.	14 "
Moy. monos.	10 %
Lym.	5 "
Türk.	1 "

Pas de myélocytes ni de normoblastes.

LEUCÉMIES

OBS. XIX. — M^{me} Chau..., 42 ans, atteinte de leucémie myéloïde chronique entrée le 29 septembre 1930 à la maison de santé municipale dans le Service du Prof. N. FIESSINGER, nous a paru tellement fatiguée que nous l'avons mise au traitement de Whipple, à raison de 200 gr. de foie cru par jour. Le traitement par rayons X fut institué d'emblée. Une crise réticulocytaire typique se manifesta le 10 octobre. Voici l'observation que nous avons pu suivre pendant près de 2 ans.

Le début de l'affection semble avoir été aigu, épisode fébrile en mai 1930, simulant un embarras gastrique. En août, la malade présente déjà une grosse rate et de la fièvre tous les soirs entre 38° et 39°. Amaigrissement de 3 kgr.

Le 27 septembre, à l'examen, on trouve une rate dure, non douloureuse de 17 × 22 cm. sur la ligne de chauffard ; le foie est dur et augmenté de volume. Pas d'adénopathies sauf un petit ganglion cervical, dur et mobile. Œdèmes durs aux chevilles, alors qu'il n'y a que des traces d'albumine dans les urines. Autres appareils normaux.

L'examen du sang révèle à cette date :

Gl. r.	3.200.000
Gl. bl.	16.300
Hémogl.	44 %
Rétic.	0,01

Dans la formule blanche on note :

Myélo neu.	10 %
Myélo éosino	6 %
Cell. indiff.	4 %

et de très rares normoblastes, 0,05 %.

Le jour même de son entrée la malade absorbe 200 gr. de foie de veau cru, ainsi que les jours suivants. Première séance de radiothérapie splénique le 2 octobre.

Le 6 octobre, l'état du sang est resté stationnaire ; il y a 21 % de myélocytes neu. et 5 % de myélocytes à granulations mixtes, éosinobasophiles, ainsi que des leucocytes dégénérés.

Le traitement radiothérapique est continué, moyennant une séance tous les 3 jours.

Le 10 octobre, amélioration quantitative considérable dans la formule sanguine, et crise réticulocytaire.

Gl. r.	3.850.000
Gl. bl.	15.1000
Hémogl.	45 %
Rétic.	7,2 %

La substance granulo-filamenteuse est abondante et tassée dans la plupart des réticulocytes. Présence d'anisocytose et de polychromatophilie dans les frottis colorés au Tribondeau. Cependant persistance de 22 % de myélos neutros, 5 % promyélos, 3 % myélos éosinos et 10 % de normoblastes. Remarquons dans cette formule l'absence continuelle de gros globules rouges nucléés et de macrocytes.

Le 15 octobre, donc 17 jours après le début du traitement de Whipple, les réticulocytes sont encore à 4 %. D'autre part :

Gl. r.	3.740.000
Gl. bl.	162 000
Hémogl.	45 %

La formule n'a pas varié les jours suivants, le 20 octobre il y a :

Gl. r.	3.760.000
Gl. bl.	112.000
Hémogl.	47 %
Rétic.	3 %

L'examen de sang est pratiqué tous les quatre ou cinq jours. Enfin le 5 novembre le chiffre des leucocytes a baissé.

Gl. r.	3.400.000
Gl. bl.	59.000
Hémogl.	50 %
Rétic.	1 %

Après une dernière séance de raxons X le 7 novembre la malade nous quitte, présentant un bon état général, conservant une rate hypertrophiée et un foie un peu gros.

Nous ne perdons pas de vue cette M^{me} Chau... Le 4 avril 1931 elle nous demande un examen de sang ; il révèle alors :

Gl. r.	4.370.000
Gl. bl.	104.000
Hém.	65 %
Rétic.	0,7 %

La formule blanche contient encore 10 myélocytes, 3 cell. indifférenciées, 6 promyélocytes et 2 % de normoblastes. Le foie mesure 19 cm. et la rate, dure et un peu douloureuse 31 cm. De nouveau la malade suit un traitement radiothérapique, au cours duquel les leucocytes régressent à 60.000, et nous voyons ne pas apparaître de crise réticulocytaire. La malade reprend le régime de Whipple (125 gr. de foie cru) pendant 15 jours par mois, dès qu'elle se sent fatiguée.

Fin décembre 1931, on recommence une série de rayons X à séances espacées de 4 jours ; on administre 500 R pendant 20' sur la rate à chaque fois. Enfin le 21 février, dernier examen du sang avant le départ de la malade qui va s'installer en province :

Gl. r.	3.500.000
Gl. bl.	5.000
Hémogl.	50 %
Rétic.	5 %

La formule qualitative est excellente :

Poly neu.....	74 °
Poly éos.....	1 °
Poly baso.....	13 °
Gd. mono.....	1 °
Moy. mono.....	1 %
Lymphos.....	2 %
Myélo neu.....	6 %
Normobl.....	0,3 °

et quelques cellules dégénérées.

La rate mesure 13 cm. sur la ligne de Chauffard, le foie est de volume normal ne dépassant pas les fausses côtes..

Dans cette observation de leucémie myéloïde chronique nous remarquons comme dans les exemples précédents, que l'irritation des centres hématopoiétiques se traduit dans la série rouge par l'apparition dans le sang circulant de normoblastes et de réticulocytes, et cela en dehors de toute anémie accentuée et de toute aggravation.

OBS. XX. — M. Bay..., 52 ans, présente de la fatigue, de l'amaigrissement, une température vespérale élevée depuis plusieurs mois, quand nous le voyons pour la première fois le 11 février 1934. Ethylisme avancé; paludisme en 1917. A l'examen gros foie mesurant 15 cm. sur la ligne mamelonnaire, rate énorme, dure, non douloureuse, mesurant 26 cm. sur la ligne de Chauffard. Pas d'adénopathies, autres organes normaux. Mais une albuminurie élevée, les urines ont un aspect épais à l'émission. Dans le culot de centrifugation, nombreux leucocytes, dont la plupart très altérés mais à un seul noyau.

L'examen de sang révèle ce jour :

Gl. r.	4.440.000
Gl. bl.	41.000
Rétic.....	7 °

La formule est :

Poly neu :.....	35 %
Poly éos.....	5 %
Poly baso.....	1 %

Gd. monos	1 %
Moy. monos	8 %
Lymphos.....	1 %
Métamyélos neutro.....	7 %
Myélo neutro.....	26 %
Myélo baso.....	2 %
Turek.....	2 %
Promyélo	5 %
Indifférenciés.....	8 %

On trouve en outre 6 normoblastes pour 100 leucocytes et deux très gros globules rouges avec noyau en mitose, affectant l'aspect de chrysanthème effeuillé.

Nous demandons au malade d'entrer dans le service du Prof. N. FIESSINGER.

Le 19 février, le malade entre salle Rayet ; sa leucocytose a baissé :

Gl. r.	3.840.000
Gl. bl.	27.500
Rétic.....	5,9 %
Hém.	40 %

La formule des étalements colorés est restée la même.

On commence un traitement radiothérapique. Séances les 20 et 24 février 1931.

Le 27 février, l'examen de sang révèle une diminution des hématies, malgré la présence de nombreux réticulocytes et de nombreux normoblastes ; la formule qualitative n'a pas varié :

Gl. r.	2.860.000
Gl. bl.	27.000
Hémo.....	42 %
Rétic.....	7 %

Le malade paraît fatigué. On cesse les rayons X après une dernière séance le 28 février. L'examen du 4 mars révèle :

Gl. r.	3.260.000
Gl. bl.	13.500
Rétic.....	7,2 %

La substance réticulo-filamenteuse est extrêmement dense, en « pelote de fil », on distingue parfaitement les normoblastes dans les-

quels le réticulum n'est cependant pas plus abondant que dans certaines hématies non nucléées. Formulé :

Poly neu.....	63 %
Poly éos.....	0 %
Poly baso.....	2 %
Gds monos.....	1 %
Moy. monos.....	10 %
Lymphos.....	5 %
Métamyélotro.....	5 %
Myélo neu.....	10 %
Promyélo.....	1 %
Cell. indiff.....	3 %
Normobl.....	4 %
Pseudo-mégabl.....	8 %
Gros proérythroblastes orthobaso...	7 %

Le taux des éléments nucléés de la série rouge se rapporte à 100 gl. bl. Nous appellerons pseudomégalo blastes de grandes hématies pâles, dont le noyau est compact, rarement volumineux, non vacuolaire. Leur protoplasma, très légèrement chargé d'hémoglobine les stigmatise indubitablement comme faisant partie de la série rouge.

Son médecin traitant nous renvoie ce malade le 11 juin 1931 sachant l'intérêt que nous portons à l'évolution de cette leucémie.

Gl. r.....	3.950.000
Gl. bl.....	16.300
Hémogl.....	64 %
Rétic.....	5,5 %

Dans l'équilibre leucocytaire on trouve 20 % myélo neu., 2 % promyélo, 13 normoblastes et 12 pseudomégabl. pour 100 gl. bl. et 5 noyaux libres.

Le foie mesure 17 cm. comme antérieurement, mais la rate est de 12×12 . Le malade amaigri, est pâle, mais ne se plaint que de légère fatigue.

Enfin, en février 1932, il est hospitalisé à l'Hôtel-Dieu et on nous apprend que son état général n'est pas plus mauvais.

Deux choses sont intéressantes dans cette observation : D'abord, le chiffre des gl. bl. n'a jamais atteint 50.000, et se maintient après la radiothérapie au-dessous de 20.000. Ensuite, la formule qualitative a persisté très « maligne ». Nombreux myélocytes, promyélocytes et surtout cellules immature de la

série rouge dans le sang circulant. L'irritation intense de la moelle se traduit en outre par un taux élevé de réticulocytes, constamment présents, ne semblant pas répondre à une sollicitation exogène, comme par exemple l'anémie ou la radiothérapie.

Enfin le malade vit très bien avec ses centres hématopoïétiques en effervescence, sa grosse rate et sa fièvre.

Dans la série des *leucémies chroniques*, citons encore :

OBS. XXI. — M^{me} Pla..., âgée de 59 ans. Des adénopathies multiples, une légère hypertrophie de la rate et de la fièvre (38-39) continue sont apparus en 1925. Nous recevons la malade à la Maison de Santé municipale, dans le Service du Prof. N. FIESSINGER, en novembre 1929. Elle a subi de nombreuses séances de radiothérapie et présente un bon état général, mais est atteinte d'une rhinite sinusite suppurée depuis trois semaines. A l'entrée, l'examen du pus nasal révèle une prédominance de polynucléaires et peu de microbes. Mais l'examen du sang montre qu'il s'agit sans doute de lymphome nasal, car la formule est la suivante :

Gl. r.	3.200.000
Gl. bl.	102.000
Hémogl.	60 %
Rétic.	4 %
Poly neu.	3 %
Poly éos. baso.	0
Gd. mono.	4 %
Moy. mono à type splénocyte.	85 %
Petit lympho.	6 %
Lymphoblastes à noyau vacuolaire.	2 %

Pas de gl. r. nucléés. La radiothérapie faite sur le nez, fait régresser la sinusite. Nous surveillons l'état du sang chez cette malade pendant 10 mois, en raison d'une analyse par semaine. Résumons seulement les formules, peu variées :

Gl. r.	4.100.000 à 3.700.000
Gl. bl.	1.20.000 à 75.000
Hém.	55 % à 60 %

Le taux des réticulocytes varie de 3 à 5 % ; la substance granulo-

filamenteuse est abondante, souvent en couronne d'épines. Sur les lames colorées au Tribondeau, la polychromatophilie est inconstante. Il n'y a jamais de gl. r. nucléés. Les polys neu. ne dépassent jamais 20 %, les moy. monos varient entre 71 % et 82 %. De temps à autre apparaissent des formes jeunes à très petit protoplasma en croissant et noyau vacuolaire, dans le taux de 2 à 4 %.

On remarquera la réticulocytose élevée sans réaction myéloïde et sans anémie.

MALADIE DE HODGKIN

Les réactions inflammatoires de la maladie de Hodgkin (granulomatose maligne) peuvent s'étendre aux centres hématopoïétiques. KLIMA de Vienne, semble être le seul auteur qui ait systématiquement étudié les réticulocytes au cours de cette affection. Ses 32 observations sont complétées par des biopsies ou autopsies, dans lesquelles la présence de cellules de Sternberg et l'infiltration de leucocytes polymorphes (neutros, surtout éosinos, basos et grands éléments mononucléés) confirment le diagnostic. KLIMA observe des réactions réticulocytaires atteignant un taux de 3 à 4 %, dans les formes anémiques et au cours de rémissions après des périodes fébriles.

Nous-même avons, avec le Prof. Noël FIESSINGER, présenté à la Société Anatomique quatre observations de réticulocytose au cours de la maladie de Hodgkin. Il s'agissait des sujets suivants, dont voici les observations résumées. On voit qu'à certaines périodes, généralement au cours de rechutes, l'irritation médullaire se traduit par une réticulocytose pouvant atteindre 8 à 10 % sans s'accompagner forcément de réaction myéloïde de la série blanche.

OBS. XXII. — M^{lle} T... présente depuis un an des adénopathies discrètes cervicales et quelques ganglions de la grosseur de noisettes dans l'aisselle, Température oscillant de 37°8 à 38°5 depuis 3 mois (février-avril 1929). Léger prurit nocturne. Rate 12 × 14 cm. Biopsie d'un ganglion : cellules de Sternberg typiques et infiltration polynucléaire. Sang : 10 mai 1929 :

Hgb (Gowers).....	72 %
Gl. r.	4.750.000
Gl. bl.	12.500
Réticulocytes	7 %

Nous la renvoyons en province conseillant à son médecin de faire un traitement radiothérapique. Avant son départ, la formule sanguine était très constante : 15 mai 1929 :

Hgb	72 %
Gl. r.	4.600.000
Gl. bl.	11.050
Réticulocytes	6,4 %

Sauf les ganglions et la rate tous les organes semblaient normaux.

OBS. XXIII. — M. Bau..., 25 ans, examiné le 30 septembre 1930.

En 1928, le malade s'aperçoit de la présence d'un ganglion de la grosseur d'une noix dans le creux susclaviculaire droit, puis un autre analogue apparaît peu de temps après dans le creux sus-claviculaire gauche. Ces ganglions sont mobiles, indolores, bien circonscrits. A cette époque, pas de fièvre.

En mars 1929 apparaissent des douleurs dans ces ganglions, de la fièvre, irrégulière, max. 38° et du prurit nocturne sur le corps entier, peu intense, disparaissant après quelques mois.

Puis, fin 1929 le malade présente un aspect bouffi, infiltré, le cou s'épaissit, engainé de gros paquets ganglionnaires. Un syndrome de compression médiastinale se manifeste, légère dysphagie, dyspnée à la station debout, changement du timbre de la voix. On constate déjà une albuminurie, passagère, qui existe de nouveau lorsque nous examinons le malade en 1930. A ce moment, aspect très particulier : tête piriforme, thorax large, étalé, contrastant avec le reste du tronc et du bassin non infiltré. Le malade rappelle l'aspect des personnages égyptiens visibles sur les monuments de l'Empire. On constate une hypertrophie énorme des ganglions cervicaux, axillaires, susclaviculaires et inguinaux, gauches surtout. Foie de 19 cm. sur la ligne mamelonnaire. Rate 17 cm. grand axe. Le cœur, les réflexes, les fonctions digestives, sont normaux. La radiographie révèle des ganglions hilaires énormes. Une biopsie d'un ganglion cervical montre une énorme infiltration leucocytaire (aspect de mosaïque bigarrée), une trame fibreuse et des cellules de Sternberg multinucléées. La température oscille de 37°5 à 38°9.

Sang : 1^{er} octobre 1930.

Gl. r.	4.800.000
Gl. bl.	7.500
Hémogl.	45 %
Réticulocytes	5,5 %

Le malade part chez lui en province après la cicatrisation de la petite plaie déterminée par la biopsie. Avant son départ on a eu le temps de lui faire 4 séances de radiothérapie, c'est-à-dire entre le 1^{er} et le 15 octobre. Le 10 octobre, le sang présente :

Gl. r.	4.720.000
Gl. bl.	9.000
Hémogl.	46 %
Réticulocytes	5,4 %

Le 15 octobre, l'examen du sang n'a pas changé sensiblement, mais : réticulocytes 4 %.

OBS. XXIV. — M^{me} Jou..., 25 ans.

Pas d'antécédents pathologiques mais chétive comme enfant, première adénopathie cervicale peu marquée à 19 ans.

En 1930, amaigrissement progressif, insomnies, céphalées et anorexie. Température vespérale 38, matinale 37°2. On pratique une radioscopie qui ne révèle aucune lésion pulmonaire. En février 1931, la température oscille entre 39 et 40° le soir, et progressivement s'installe une adénopathie cervicale bilatérale qui atteint en deux mois un volume tel que la malade peut à peine tourner la tête. Quelques ganglions apparaissent encore dans l'aisselle droite, puis aux aines. Pas de prurit. Les ganglions sont mobiles, durs, indolores. Pas de grosse rate. Nous examinons cette malade le 14 avril 1931.

Gl. r.	4.330.000
Gl. bl.	4.000
Hémogl.	63 %
Réticulocytes	6,6 %

On commence un traitement radiothérapique énergique bien surveillé par son médecin traitant. Nous la revoyons le 13 mai ; elle a augmenté de poids (2 kgr.), les adénopathies inguinales ont disparu, celles du cou ont régressé. La température ne dépasse pas 37°8 le soir. Le sang présente :

Gl. r.	3.785.000
Gl. bl.	12.400
Hémogl.....	59 %
Réticulocytes....	0,3 %

Après 4 nouvelles séances de rayons X en juin, elle présente le 13 juillet :

Gl. r.	5.180.000
Gl. bl.	8.000
Hémogl.....	70 %
Réticulocytes	0,7 %

Nous la revoyons le 21 septembre après un séjour à la campagne : excellent état général, disparition des adénopathies, sauf cervicales à droite, et encore quelques ganglions durs à gauche.

Gl. r.	3.970.000
Gl. bl.	6.200
Hémogl.....	80
Réticulocytes	0,18 %

OBS. XXV. — M^{me} Cia..., 63 ans.

La malade, qui n'a pas d'antécédents pathologiques importants, a remarqué que des tuméfactions dures, indolentes, comblaient ses creux sous-axillaires à la fin de 1926; elle ne peut préciser le début de ces adénopathies. Elle maigrit insensiblement, présente des poussées de température irrégulière mais ne consulte un médecin qu'en 1929, en octobre alors qu'elle est gravement atteinte. Nous la recevons à la Maison de Santé Dubois (service Prof. FIESSINGER) le 26 octobre. Malade pâle, aspect bouffi, infiltré, d'énormes œdèmes aux membres inférieurs. Dyspnée intense, cœur arythmique, albuminurie. Des adénopathies considérables, en bourrelet, existent dans les régions sous-claviculaires, axillaires, inguinales. Les ganglions cervicaux sont durs, mobiles, peu hypertrophiés. On sent à la palpation une masse arrondie, dure, située le long de la colonne vertébrale, en arrière des anses intestinales, la maigreur de la malade permettant d'y accéder facilement. La radiographie montre un médiastin encombré de masses ganglionnaires. La rate mesure 21 × 14 cm. Le foie est augmenté de volume. La température oscille entre 37 et 38°2 avec poussée à 40, quelques jours avant la mort. Le traitement consiste en médication symptomatique (contre la dyspnée, etc.) et 3 séances de rayons X. Une biopsie d'un ganglion révéla l'aspect suivant : tissu

réticulaire hypertrophié plus en certains points qu'en d'autres. Dans les mailles du réticulum on distingue des cellules réticulées volumineuses, turgescents, à noyau irrégulier et parfois monstrueux. Il y a peu de cellules de Sternberg typiques. Présence de leucocytes polynucléaires disséminés et quelques globules rouges épars.

Le sang, présenté à l'entrée le 26 octobre 1930 :

Gl. r.	2.400.000
Gl. bl.	4.000
Hémogl.	30 %
Réticulocytes	5 %

Les œdèmes considérables avaient certainement provoqué une dilution sanguine, les mains de la malade étant très infiltrées, ainsi que même les lobules des oreilles. Le 29 octobre, séance de radiothérapie. Le 31 octobre le sang présentait :

Gl. r.	2.500.000
Gl. bl.	3.400
Hémogl.	32 %
Réticulocytes	2 %

Malgré le mauvais état général la malade parvient à ingérer 120 gr. de foie de veau cru en pulpe presque tous les jours. Le sang du 4 novembre donne :

Gl. r.	2.900.000
Gl. bl.	6.000
Réticulocytes	2,5 %

Séance de rayons X le 7 novembre. Le lendemain, l'hémogramme est :

Gl. r.	2.530.000
Gl. bl.	2.000
Hémogl.	30 %
Réticulocytes	6 %

Nouvel examen de sang le 12 novembre. L'anémie augmente ainsi que la leucopénie :

Gl. r.	1.930.000
Gl. bl.	1.700
Hémogl.	28 %
Réticulocytes	8 %

Dernière séance de rayons X le 13 novembre. Le sang présentera le 16 novembre :

Gl. r.	2.100.000
Gl. bl.	1.500
Hémogl.....	30 %
Réticulocytes	28 %

Peut être le régime de Whipple intervient-il dans cette crise réticulocytaire car l'anémie tend à s'amender ; le 22 novembre le sang présente :

Gl. r.	3.400.000
Gl. bl.	4.400
Réticulocytes	11 %
Hémogl.....	41 %

Néanmoins la malade meurt de pneumonie aiguë le 25 novembre 1930.

RÉTICULOCYTES DANS LES AFFECTIONS GÉNÉRALES ET DANS LES INTOXICATIONS

RÉTICULOCYTES DANS LES NÉOPLASIES

Les réactions myéloïdes sont assez fréquentes au cours de cancers soit primitifs, soit secondaires des os. NÆGELI y consacre un chapitre spécial dans son *Traité d'hématologie*, édition 1930. Il a observé des sarcomatoses avec, outre un fort pourcentage de myélocytes dans le sang circulant, la présence de normoblastes et d'un taux élevé d'hématies granulo-filamenteuses. Il admet que des compressions de la moelle osseuse pourraient jouer un rôle dans l'apparition de ces éléments figurés jeunes ou même embryonnaires, traduisant une irritation des centres hématopoïétiques.

Nous avons observé un cas intéressant à ce point de vue :

OBS. XXVI. — La malade (M^{me} Gasp...), âgée de 40 ans présente un cancer du sein (squirrhe rétracté) avec localisations vertébrales se

traduisant par une cyphoscoliose qui s'accroît de jour en jour, et où la radiographie révèle une lésion portant sur plusieurs vertèbres. C'est la seule métastase (sauf des ganglions axillaires) que l'on puisse découvrir. Le foie est normal. Ni ascite ni œdèmes, urines normales. La rate est percutable, non palpable. Il existe un épanchement pleural, que l'on ponctionne et dont le liquide présente la formule suivante :

Poly neu.....	9 %
Moy. monos.....	10 %
Lymphos.....	45 %
Cellules endothéliales.....	5 %
Grands placards endothéliaux.....	36 %
et nombreux globules rouges.	
Normoblastes.....	6 %
Retic.....	9,7 %

Le même jour, l'examen de sang révèle :

Gl. r.....	2.700.000
Gl. bl.....	10.000
Rétic.....	7 %
Hgl.....	30 %
P. neu.....	53 %
I. éos.....	0
P. bas.....	2 %
Gd. mono.....	9 %
Moy. mono.....	26 %
Lyr.....	6 %
Myélo neu.....	2 %
Cell. Turck.....	2 %
Normobl.....	1 %
Pseudo-mégalo.....	1 %

Chez cette malade, dont nous ne donnons ici que l'observation très résumée, on se trouve donc en présence d'une anémie d'importance moyenne, de métastases néoplasiques vertébrales seulement, et néanmoins de taux élevés tant de réticulocytes que d'hématies nucléées. Leur présence dans le liquide pleural est à relever : on connaît le travail intéressant de MM. GUILLAIN et TROISIER, qui remarquent expressément l'absence d'hématies granuleuses parmi les globules rouges d'hématomes

pleuraux traumatiques (2 cas). Ces auteurs apportèrent, dès 1909, d'excellents arguments pour démontrer que les réticulocytes rencontrés dans les épanchements traumatiques ne sont pas de formation locale, et ne témoignent pas d'un processus d'altération dégénérative.

Si les néoplasmes siégeant dans le tractus gastro-intestinal s'accompagnent fréquemment d'anémie, avec absence de réactions médullaires régénératives, les cancers d'origine ganglionnaire, sans anémie et sans métastases osseuses, présentent souvent une formule érythrocytaire spéciale. Dans deux observations personnelles nous avons trouvé une assez forte réticulocytose.

OBS. XXVII. — Dans le premier cas il s'agit d'un sujet jeune, 27 ans, présentant depuis 4 mois les symptômes suivants qui s'exagèrent de jour en jour : amaigrissement, douleurs lombaires avec rigidité rachidienne, taches ovalaires sur les radiographies pulmonaires, dont on suit l'augmentation de volume de semaine en semaine. Des vomissements post-prandiaux s'installent, et enfin la palpation de l'abdomen révèle une masse arrondie, dure, fixée semble-t-il à un plan postérieur. Intervention chirurgicale le 19 février 1931, c'est-à-dire 3 semaines après l'entrée du malade dans le service. La laparotomie montre un énorme paquet de ganglions périoduodénaux, fixes et confluent. La malade succombe le lendemain. L'autopsie révèle un cancer profond des ganglions, avec généralisation pulmonaire. Sur les coupes histologiques on voit qu'il s'agit d'un carcinome pur et non d'un lymphosarcome, comme on aurait pu l'imaginer.

Nous avons fait trois examens de sang à ce malade. La réticulocytose était assez marquée.

2 février :

Gl. r.	4.010.000
Gl. bl.	16.200
Rétic.	3 %
Hém.	60 %

Dans la formule leucocytaire, aucune cellule jeune ou embryonnaire, au contraire, échelle d'Arneth déviée à gauche avec prédominance de polynucléaires à noyau divisé en 4 ou 5 lobes ; éosinophiles : 3 %.

8 février :

Gl. r.	3.500.000
Gl. bl.	7.000
Rétic.	1,7 %
Hém.	65 %

11 février :

Gl. r.	4.200.000
Gl. bl.	9.000
Rétic.	2,5 %
Hém.	68 %

La formule leucocytaire à cette date se compose ainsi :

Poly neu	79 %
Poly éos.-baso	0
Myélo neu	1 %
Gd. monos.	7 %
Moy. monos	11 %
Lymphos.	2 %

A l'autopsie nous avons pu recueillir de la moelle sternale. Elle contenait quelques rares normoblastes avec noyau bi et trilobé, en pyknose et quelques grandes cellules indifférenciées à noyau vacuolaire. Aucun signe de régénérescence de la série blanche.

Deux cas d'anémie grave, dans lesquels le traitement par le foie de veau fut un échec complet, ont simulé le tableau clinique d'anémie de Biermer pendant des mois. Au début, la valeur globulaire fut près de 1 dans les deux cas, et les hématies présentaient des déformations : poikilocytose et anisocytose. De temps à autre on trouvait un normoblaste sur les frottis colorés, parfois un macrocyte très pâle présentant un petit noyau en pyknose, affectant alors une forme en trèfle ou en besace. On les aurait volontiers confondus avec de véritables mégalo-blastes, mais un examen très attentif révélait l'absence de caractères embryonnaires dans ces cellules.

Cliniquement, ces malades présentaient quelques troubles digestifs, de l'anachlorhydrie, de l'urobilinurie, divers souffles vasculaires anorganiques. La palpation de l'abdomen ne révé-

OBSERVATION XXVIII

[illegible]

lait rien de spécial ni splénomégalie ni gros foie. Des mois passèrent, un jour on perçoit des signes discrets de tumeurs chez ces sujets.

Nous avons suivi dès lors l'évolution de cancers. Mais l'anémie était une anémie secondaire due au néoplasme qui ne traduisait pas encore sa présence par des syndromes plus sensibles.

Nous résumons d'une façon très concise, dans les tableaux précédents ces 2 observations prises très en détail et comportant des dossiers qui s'étendent sur 1 an et 8 mois respectivement. On verra combien irrégulier fut le comportement de poussées réticulocytaires, spontanées, sans rapports avec une amélioration clinique ou un traitement.

Obs. XXVIII. — M^{me} Deb..., 56 ans, entre à la Charité, Service du Prof. Noël FIESSINGER le 4 juin 1931 pour une asthénie progressive, qui s'est accentuée journellement, ayant débuté après une grippe en mars 1931. La malade ne peut continuer son travail (repasseuse), présente de l'essoufflement à la marche, et des œdèmes aux membres inférieurs.

A l'examen on est frappé par son teint pâle, cireux. Il existe de l'œdème palpébral ; les œdèmes des membres inférieurs sont dépressibles, blancs, un peu douloureux. L'auscultation révèle un souffle variable, anorganique au cœur, ainsi que des souffles jugulaires et oculaires. T. A. 17-7. Les poumons présentent quelques râles aux bases, une matité à la base droite, avec diminution de la respiration, sans souffle ni pectoriloquie. Une ponction exploratrice ramène une petite quantité de liquide citrin. La palpation de l'abdomen révèle un foie gros et douloureux (12 cm. sur ligne mammelonnaire) et une rate palpable. La malade est plutôt grasse, pesant 57 kgr. Température 38° le soir, pouls régulier à 100 ; urines normales. Un examen complet du système nerveux ne révèle rien d'anormal.

Nous résumons en un tableau les examens de sang. A l'entrée on trouve :

Gl. r.	1.660.000
Gl. bl.	7.200
Hgl.	20 "
Rétic.	0,4 "

Anisocytose, poikélocytose, pas d'éléments rouges nucléés.

Le traitement par le foie de veau (100 gr. par jour) semble améliorer l'état général de la malade, et le chiffre des hématies remonte de 800.000 en un mois, sans crise réticulocytaire. Pendant ce premier mois de son séjour, on complète l'examen. Il existe une légère urobilinurie. Pas de sang dans les selles (réact. Meyer négative). Rien au toucher vaginal, ni au toucher rectal. Pas d'HCl libre dans le suc stomacal. Pas de rétention gastrique, pas de liquide à jeun. Les œdèmes régressent peu à peu, les pommettes se colorent en rose, mais les muqueuses restent exsangues. Une diarrhée de plusieurs jours, survenue au début de juillet, fait cesser le traitement de Whipple. Le 13 juillet la malade présente :

Gl. r.	3.320.000
Gl. bl.	7.000
Hémogl.....	30 %
Rétic.....	0,25

Elle part de l'hôpital, promettant de reprendre le traitement par le foie de veau.

Nous la recevons de nouveau dans le Service le 21 septembre, aussi pâle qu'à son entrée 3 mois plus tôt. La malade est dyspnéique, les souffles vasculaires sont très accentués. Une diarrhée de 5 à 6 selles par jour la fatigue énormément ; l'examen des selles ne révèle ni parasites, ni sang, ni corpuscules graisseux anormaux. Le régime de Whipple n'est pas supporté. L'examen de sang révèle :

Gl. r.....	2.210.000
Gl. bl.	9.200
Hémogl.....	55
Rétic.....	2 %

On commence dès lors un traitement par le carotène pur, injectable, à raison de 2 cmc. par jour en injection intramusculaire et 2 cmc. par la bouche. Le 28 septembre nous constatons une crise réticulocytaire :

Gl. r.	2.071
Gl. bl.	8.000
Hémogl.....	35 %
Rétic.....	7 %
P. neu.	72 %
P. éos.....	2 %
Moy. mono	14 %
Lympho.....	8 %
Normoblastes	1 %

Le 6 oct. les gl. r. se sont élevés à 2.840.000 avec gl. bl. 7.400, Hémogl. 30 %, rétic. 5 %.

A cette époque la malade se plaint de douleurs sourdes dans la région hépatique ; le foie déborde toujours de trois travers de doigt, la rate est nettement palpable, sa matité remonte très haut, indistincte. Dans le sein gauche on découvre une petite masse adhérente au plan profond, du volume d'une noix environ. Aucune adénopathie. La malade refuse de continuer le traitement par le carotène.

Pendant tout le mois d'octobre et novembre les gl. r. oscillent entre 2.000.000 et 2.300.000. Les réticulocytes sont au-dessous de 1 %, l'hémoglobine à 30 %.

Ne s'agirait-il pas dans ce cas d'une chloro-anémie ferri prive ? La non-progressivité, la valeur globulaire peu élevée, la pâleur bouffie de la malade commencent à ébranler le diagnostic d'anémie pernicieuse progressive de Biermer.

Donc le 22 nov. on institue un traitement par le fer réduit, 6 cachets de 0 gr. 50 par jour. On effectue une résistance globulaire, qui est normale (H_1 42 H_2 44) tant sur le sang total que sur le sang déplasmatisé. L'état général reste stationnaire, et malgré une crise réticulocytaire le 26 nov. l'amélioration est insensible.

26 novembre :

Gl. r.	2.880.000
Gl. bl.	4.200
Hém.	25 %
Rétic.	4,7 %

La malade souffre d'une façon diffuse dans l'abdomen, est anorexique mais ne vomit pas. Le foie qui n'a pas augmenté de volume depuis un mois devient dur au niveau de son lobe gauche et on sent une bosselure à sa surface plus qu'on ne la palpe réellement car la malade se défend.

Le 29 nov. le sang présente :

Gl. r.	2.700.000
Gl. bl.	5.100
Hémogl.	27 %
Rétic.	1,5 %

La crise réticulocytaire a donc été extrêmement fugace.

Le 2 décembre, on révisé complètement la malade : tous les examens sont négatifs, système nerveux normal, cœur et poumons nor-

maux, pas d'adénopathies, pas d'œdèmes, urines sans albumine ni sucre.

Il reste : l'anémie, un gros foie dur, douloureux, une grosse rate étalée difficile à mesurer et un nodule dur et adhérent dans la profondeur du sein. Aucun trouble digestif sauf diarrhée occasionnelle.

Aucun signe ne permet d'affirmer l'existence d'un néoplasme, mais cette hypothèse surgit de temps à autre au fond du tableau, pour disparaître faute d'arguments en sa faveur. Le fer est bien supporté. On continue à administrer par jour 5 à 6 cachets de 0 gr. 50 de fer réduit.

Tout le mois de décembre l'état de la malade reste stationnaire. Les globules rouges oscillent entre 2 millions et 2.500.000. Les réticulocytes sont au-dessous de 1 %.

Dans la première semaine de janvier, elle accuse des douleurs lancinantes dans la région hépatique. La palpation révèle un petit nodule dur, siégeant sur le foie, et un peu d'ascite aux points déclives. Le 11 janvier, on pratique l'épreuve du rose bengale : il est normal (= 2). Néanmoins on conclut : lésion métastatique du foie. Le 14 janvier la radioscopie montre une image pylorique anormale en T ; mais les radiographies en série ne donnent pas d'image nette. Le 22 janvier et les jours suivants surviennent quelques vomissements alimentaires, de légères poussées thermiques à 38°5 le soir, l'état général s'altère. Le sang présente le 25 janvier :

Gl. r.	2.150.000
Gl. bl.	9.200
Hém.	25 %
Rétic.	0,7 %

Le matin du 27 janvier, poussée thermique à 40°. La région hépatique est très douloureuse, on sent plusieurs nodules confluent à la surface du foie.

La petite masse sentie dans le sein gauche n'augmente pas de volume ; nulle adénopathie.

Etat stationnaire jusqu'au 11 février ; dans la soirée de ce jour, épistaxis. Pas de mélæna, pas de purpura. Les souffrances de la malade sont soulagées par sédol, huile camphrée enfin morphine. Le 13 février, poussée thermique à 41°8. Le lobe gauche présente des bosselures de plus en plus superficielles. Le taux des leucocytes monte à 48.200, témoin de l'infection des nodules néoplasiques.

Gl. r.	2.010.000
Hém.	25 %
Rétic.	2 %

La malade meurt le 16 février.

L'autopsie révèle :

Cancer du pylore, avec cancer secondaire du foie, lésions intra-parenchymateuses, dont l'une, abcédée effleure la surface. Le foie pèse 2.600 gr. Rate pâle, de 390 gr. Organes génitaux internes et reins sans lésions. Nodule lobulé dans le sein gauche. Cœur et poumons normaux.

Moelle sternale en pleine reviviscence rouge. Présence de nombreux proérythroblastes, érythroblastes orthobasophiles, normoblastes. Quelques promyélocytes, myélo-neutro et éosinophiles.

La coloration par la méthode supravitale ne révèle rien de plus sur les frottis de moelle sternale que les préparations colorées au Tribondeau.

La deuxième observation de cette série a été déjà publiée dans la thèse du Dr LE LOURDY ; résumons-là ici :

OBS. XXIX. — M. Han..., 34 ans. entre pour la première fois dans le Service du Dr Noël FRIESSINGER, Maison de Santé Municipale en 1928. Atteint de diarrhée, de fièvre, avec une leucocytose de 11.000 gl. bl., on le traite comme un amibien, quoique la recherche de kystes et d'amibes dans les selles soit restée négative. Après avoir reçu 60 centrigr. d'émétine en 10 jours, le sujet est très amélioré et apyrétique.

Il revient dans le Service un an plus tard ; tous les troubles digestifs se sont accentués, il présente en outre une anémie accentuée ; des crises diarrhéiques avec stries sanglantes l'affaiblissent, il maigrit. L'acide HCl est en quantité normale dans le suc gastrique. Les examens radiologiques du tractus intestinal sont négatifs. Le traitement de Whipple échoue, ainsi qu'un traitement par le Yatren. L'anémie progresse. Le malade meurt cachectique après avoir présenté du melenæ.

A l'autopsie on trouve un cancer ulcéreux, végétant du côlon droit, qui adhère au foie, au duodénum et à la vésicule biliaire ; nulle part on ne trouve de métastases. Histologiquement il s'agit d'un épithélioma atypique infiltrant dans un stroma conjonctif dense.

La crise réticuloéycaire terminale (7 %) fut spontanée.

OBSERVATION XXIX.

Dates	Gl. Rouges	Gl. Blancs	Hém.	Réic.	P. Neu.	P. éos.	P. bas.	Gd	M.	Moy. M.	Lym	Normobl.
20 nov. 1928	4.820.000	11.500	33 %		78	5	1	6		7	3	
10 avr. 1929	2.310.000	7.000	30 %	2,5 %	81	0,5	0,5	6		20	1	2
24 —	2.377.000	12.400	30 %	6,5 %	70	2	1	12		6	9	
17 mai 1929	2.880.000	9.200	27 %	2 %	85	0	2	6		6	1	
24 mai 1929	1.925.000	12.000		1 %	84	0	2	4		4	6	
30 —	1.425.000	12.000	14 %	7 %								

M. Han., cancer du côlon.

INFLUENCE DU CORPS THYROÏDE SUR LA RÉTICULOCYTOSE

L'hémogramme dans la maladie de Basedow se caractérise par un chiffre normal de globules rouges, Hémoglobine autour de 80 % et souvent une légère leucopénie : celle-ci porterait surtout (KOCHER, 1906, NÆGELI, 1929) sur les polynucléaires neutrophiles. Certains auteurs mentionnent une lymphocytose relative très élevée. Le prof. NÆGELI considère la neutropénie comme un signe d'insuffisance hématopoïétique de la moelle osseuse.

On peut opposer à ces constatations les observations de MOLDAWSKY, qui montrent que « l'activité hématopoïétique de la moelle osseuse est considérablement augmentée dans la maladie de Basedow, surtout lorsque le métabolisme basal est élevé ». Cet auteur a surtout examiné les éléments de la série rouge. Il trouve un taux élevé de réticulocytes en dehors de toute anémie. Néanmoins, ce taux ne s'élève généralement pas au-dessus de 3 %, oscillant le plus souvent entre 1,5 et 2,5 %.

Dans la thèse de GRODNITZKY (Paris, 1930) on trouvera le résumé de ces travaux et le protocole d'expériences suivant :

GRODNITZKY injecte 0 mgr. 2 de thyroxine Roche à un cobaye de 212 gr. « Le nombre des gl. r. qui était, avant l'injection, de 4.000.000, est monté, vingt-quatre heures après l'injection, à 4.900.000 pour descendre le lendemain à 3.600.000.

Le nombre des réticulocytes était, avant l'injection, de 5,2 % ; il monta 24 heures après à 7 % mais la distribution du type de substance granulo-filamenteuse était différente, envisagée d'après la classification de SEYFAHRT. Le lendemain le nombre des réticulocytes était à peu près le même. »

L'auteur conclut « que l'injection de thyrosine a provoqué une irritation de la moelle osseuse qui s'est manifestée par une hyperglobulie passagère et par une production de réticulocytes plus durable ».

ZONDECK et KOEHLER ont noté, eux aussi, une augmentation du chiffre des hématies par millimètre cube après injection de thyroïdine. Ces auteurs admettent qu'il s'agirait plutôt d'un phénomène vasomoteur.

Obs. XXX. — Nous avons examiné le sang d'une femme âgée de 45 ans atteinte d'un basedow typique avec tachycardie, exophtalmie, goitre, émotivité. C'est à cause de cette émotivité que nous avons fait trois prélèvements le même jour : tandis qu'à la première piqûre elle présentait un tremblement des mains accentué et un érythème émotif de la face et du cou intense elle semblait impassible à la troisième piqûre, s'étant bien habituée à cette intervention.

Le 13 juin 1930, à 9 h. son sang présente :

Gl. r.	5.220.000
Gl. bl.	7.500
Hémogl.....	80 %
Rétic.....	3,1 %

Le même jour à midi on trouve :

Gl. r.	5.180.000
Gl. bl.	5.400
Hémogl.....	81 %
Rétic.....	2,8 %

et le soir à 16 heures :

Gl. r.	4.550.000
Gl. bl.	5.200
Hémogl.....	78 %
Rétic.....	2 %

Il y a sans doute un facteur vasomoteur émotif (peut-être splénocontraction) qui est intervenu dans le 1^{er} et le 2^e examen de sang. Cependant, nous considérons que le taux de 2 % de réticulocytes dépasse légèrement le chiffre normal.

Dans deux observations résumées dans sa thèse, GRODNITZKY constate 2,7 % et 2 % de réticulocytes chez des basedowiens qui présentaient, par ailleurs, un hémogramme normal.

AFFECTIONS DIVERSES

La courbe des réticulocytes dans la *pneumonie* ne présente aucun intérêt particulier. Nous avons suivi trois cas, dont un avec fébricule postpneumonique. Le taux le plus élevé des réticulocytes était 0,3 %, les chiffres moyens 0,07 %. Dans une 4^e observation, le malade présenta un ictère au 5^e jour. Si cet ictère avait été d'origine hémolytique on aurait pu s'attendre à une poussée réticulocytaire quelques jours après son apparition. Il n'en fut rien, comme on le voit d'après les examens de sang ci-dessous.

OBS. XXXI. — M. Jouan..., 21 ans, entre salle Rayet, hôp. de la Charité le 12 janvier 1931. Pneumonie au 2^e jour. L'ictère débute le 15 janvier ; la maladie évolue sans incidents.

Dates	Gl. Rouges	Gl. Blancs	Hémogl.	Rétic.	L. B. P.	Jour de la maladie
13 janvier	4.120.000	17.800	70 %	0,14ē%		3 ^e
14 —	4.290.000	10.700	—	0,2 %		4 ^e
15 —	4.250.000	11.200	—	0,05 %	7,5	5 ^e
17 —	4.050.000	10.800	70	0,1 %	10	7 ^e
20 —	3.920.000	16.000	—	1 %		10 ^e
22 —	4.200.000	10.000	—	0,7 %		12 ^e
24 —	4.270.000	9.500	—	0,5 %		14 ^e
26 —	4.370.000	7.000	70	0,4 %	3,8	16 ^e

OBS. XXXII. — M. J..., 56 ans, entre à la salle Roger, Service du Prof. N. FIESSINGER le 19 janvier 1931 pour cyanose et subcoma. L'examen clinique révèle l'existence d'une *maladie bleue tardive* de BARD et CURTILLET.

Les examens de sang révèlent les chiffres suivants :

OBSERVATION XXXII

Dates	Gl. Rouges	Gl. Blancs	Hém.	Rétic.	P. Neu.	P. éos.	Gd. M.	Moy M.	Lym.	Myé. Neu.	Méta.	Normobl.
21 janvier 1931	5.950.000	9.000	98	1 %	88	0	1,5	8	0,5	1	1	0
25 —	6.100.000	8.400	96	1,7 %	80	0	1	6	7	1	3	0
10 février 1931	6.405.000	8.200	99	2 %								
15 février doigt	6.855.000	7.200		0,5	83	1	0	12	3	0	1	0
15 février oreille.....	7.120.000	7.500		0,7								

Nous étudierons maintenant trois conditions spéciales dans lesquelles la réticulocytose est souvent élevée, et d'un intérêt particulier : le saturnisme, l'ictère hémolytique et l'intoxication expérimentale par la phényl hydrazine.

SATURNISME

Les gl. r. granuleux basophiles après fixation, ou érythrocytes ponctués, au cours du *saturnisme*, sont connus depuis longtemps. Nous avons discuté, au chapitre technique, les caractéristiques de ces granulations, leur différence avec la substance granulo-filamenteuse des réticulocytes et leur signification morphologique.

Examinons maintenant le côté biologique et clinique de la question.

Dans un travail paru en 1909, Noël FIESSINGER et A. PEIGNEY ont définitivement établi les bases de nos connaissances relatives aux syndromes hématologiques observés au cours de l'intoxication par le plomb, et en particulier de la colique de plomb.

Un fait a surtout frappé ces auteurs : l'apparition de taux élevés de réticulocytes au cours d'anémie saturnine, et cela en rapport avec la durée de l'intoxication. Leur chiffre pouvait s'élever à 15 %.

Le taux des érythrocytes ponctués par contre est moins élevé et ne dépasse pas 1 %. Leur présence suffit cependant pour permettre d'affirmer une intoxication par le plomb.

Il peut y avoir une analogie entre l'évolution de la *courbe des réticulocytes* et de la *courbe des érythrocytes ponctués*. Mais, les courbes ne sont pas exactement parallèles et le pourcentage de ces éléments varie. Comme le font très judicieusement remarquer ces auteurs : le traitement que subit le malade à l'hôpital agit de deux façons différentes sur son sang : l'amélioration de l'anémie fait baisser le taux des réticulocytes et

l'élimination du plomb fait baisser le taux des érythrocytes ponctués.

Ils concluent que la présence de réticulocytes témoigne d'un effort de la moelle osseuse pour équilibrer l'anémie et la présence d'érythrocytes ponctués témoigne de l'influence toxique du plomb sur les hématies.

Ces considérations expliquent le fait que des sujets jeunes élaborent plus facilement des réticulocytes (hématies de formation hâtive et imparfaite) que des sujets âgés. Le taux des érythrocytes ponctués peut être très élevé même chez des vieillards.

Voici un exemple personnel à ce sujet :

OBS. XXXIII. — M. Bo..., 68 ans, peintre en bâtiments, atteint d'une néphrite ancienne bien tolérée. Nous examinons son sang par hasard, il dirigeait les travaux de réfection de la Maison Municipale Dubois, et avait travaillé dans la céruse dès l'âge de 16 ans.

Le 10 mars 1930, l'examen de sang présente :

Gl. r.	4.740.000
Gl. bl.	7.500
Hémogl.	82 %
Réticulocytes	0,01 %
Erythrocytes ponctués	0,07 %

Ce sujet n'était pas anémique, avait une formule sanguine normale, et néanmoins le taux des érythrocytes ponctués était élevé. La néphrite était très probablement d'origine saturnine ; cependant il n'avait jamais eu de coliques de plomb.

Il existe une anémie saturnine chez le vieillard, mais alors sa moelle osseuse ne peut faire les frais d'une régénération hématique. N. FIESSINGER et A. PEIGNEY remarquent : « des sujets âgés peuvent faire une colique de plomb avec très peu d'hématies granuleuses, malgré l'existence d'une anémie intense ».

La plus belle collection d'observations au sujet des modifi-

cations morphologiques présentées par les globules rouges au cours de la colique de plomb se trouve dans la thèse de A. PEIGNÉY (1909). Nous en citerons quelques-unes :

OBS. XXXIV. — A. Des ..., 30 ans, peintre depuis quinze ans, soigné chez lui pour une troisième colique de plomb. Examen du 18 mai 1909. Constipation depuis trois jours, coliques depuis une journée. Liséré de Burton net avec forte gingivite. Légère albuminurie, parésie du bras droit. Foie petit, rate un peu grosse. Sang :

Gl. r.	3.000.000
H.	10,8 %
Hématies granuleuses Pappenheim...	13 %
Id. bleu crésyl.....	12 %
Erythrocytes ponctués.....	22,50 ‰

Polychromatophilie et anisocytose.

22 mai : ventre moins douloureux, mais gingivite et salivation très prononcées. Parotides un peu gonflées mais très douloureuses.

H. g. Pappenheim	12 %
E. P.	13,5 ‰

29 mai : le malade va bien, il s'alimente, diarrhée fétide depuis 24 heures.

Gl. r.	3.200.000
H.	11,5 %
H. g. Pappenheim	5 %
Bleu crésyl	4 %
E. P.	4 ‰

Polychromatophilie et anisocytose très nettes.

OBS. XX. — Henri A., 17 ans, peintre depuis deux ans, un an de ponçage. Liséré. Troubles gastro-intestinaux. Entre à Beaujon le 20 mai 1909. Examen le 21 mai : Pas d'anémie. H. G. 6 %. E. P. 5 ‰.

Le 26 mai : H. G. 3 %. E. P. 3 ‰.

Enfin, dans une très belle observation de J. TROISIER, une ouvrière de 37 ans, atteinte de méningo-encéphalite saturnine présentait les caractéristiques sanguines suivantes :

Gl. r. 3.500.000, hémogl. 55 %, gl. bl. 6.900, hématies granuleuses 4 % et nombreux E. P.

En résumé :

L'intoxication saturnine entraîne souvent une anémie ; au cours de la régénération de celle-ci peut apparaître un taux élevé de réticulocytes dans le sang circulant.

Les lésions globulaires qui signalent les érythrocytes ponctués dans cette intoxication se révèlent sous forme de punctuations basophiles, visibles seulement sur les préparations fixées ; elles n'ont aucun rapport avec la régénération sanguine et ne sont pas identiques aux hématies granulo-filamenteuses.

On peut se poser maintenant la question suivante : où le plomb attaque-t-il les globules rouges ? Est-ce dans la moelle osseuse, ou bien dans la circulation générale ?

Déjà en 1903, RIBADEAU-DUMAS a publié un intéressant mémoire au sujet des organes hématopoïétiques dans l'intoxication saturnine expérimentale. Il cite les travaux plus anciens de BEHREND (1899), de GRAWITZ et d'ERLICH. Ces deux derniers auteurs ont trouvé des érythrocytes ponctués, en petit nombre, dans certaines intoxications gastro-intestinales (GRAWITZ-HAMEL) et dans les anémies graves (F. ERLICH) où il n'était nullement question de saturnisme. Ils constatent en même temps une réaction myéloïde légère, mais d'autre part aucune trace d'hémolyse. D'après MEILLÈRE et H. GEORGES la résistance globulaire serait augmentée au cours de la colique de plomb.

Expérimentalement, RIBADEAU-DUMAS obtient un essaimage de normoblastes et de myélocytes dans la circulation en intoxiquant des cobayes pendant cinq semaines avec de très faibles doses d'acétate de plomb, en injections sous-cutanées.

On connaît d'autre part, les résultats obtenus par M. Ch. AUBERTIN, qui provoquait des poussées de normoblastes (195 % gl. bl.) chez des cobayes en leur faisant *ingérer* de l'acétate de plomb. Il obtient même des réactions tellement vives que les coupes de rate de ces animaux présentent un aspect rappelant celui de la leucémie myéloïde.

Néanmoins, l'anémie n'était jamais très prononcée chez les cobayes ainsi traités : les chiffres des globules rouges ne descendaient pas au-dessous de 2.300.000.

Si donc le plomb provoque une anémie, celle-ci ne semble pas être d'origine hémolytique : les stigmates biologiques de l'hémolyse manquent : pas d'urobilinurie, pas d'ictère, pas d'hémolysines dans le sang.

Si tant est que l'action nocive du plomb s'exerce directement sur la moelle osseuse, elle ne détruit pas la puissance hématopoïétique de celle-ci. Témoin les myélocytes qui, par moments, inondent le sang périphérique.

RÉTICULOCYTES DANS L'ICTÈRE HÉMOLYTIQUE

L'ictère hémolytique congénital est l'affection dans laquelle on rencontre les taux de réticulocytes les plus élevés. 30 à 60 % de tous les globules rouges contiennent de la substance granulo-filamenteuse.

C'est au cours de leurs recherches sur les causes de la fragilité globulaire vis-à-vis de solutions hypotoniques dans les ictères hémolytiques que MM. CHAUFFARD et Noël FIESSINGER ont fait cette découverte. Mais ils ont reconnu que la présence d'hématies granulo-filamenteuses traduisait un processus de régénération sanguine et non de lésion globulaire : la moelle osseuse contient des réticulocytes très nombreux au cours de cette maladie. MM. VAQUEZ et GIROUX ont eu l'occasion, dès 1907, de constater dans la *moelle sternale*, dans un cas d'ictère hémolytique (décédé après splénectomie) la présence de normoblastes, de mégaloblastes et de myélocytes neutrophiles.

Voici, comment les divers auteurs sont arrivés, par étapes, à isoler l'ictère hémolytique des ictères hépatiques et à montrer son origine sanguine.

M. le prof. HAYEM décrit en 1898 « un ictère chronique splénomégalique », sans gros foie, accompagné d'anémie.

MINKOWSKI (1900) prouve par des examens histologiques

précis que le foie ne présente aucune lésion, sauf une surcharge ferrique intense, mais que la rate est hypertrophiée et macrophagique. Il constate le caractère acholurique de l'ictère et la présence d'urobilinurie.

Puis viennent simultanément en 1907 les découvertes hématologiques de M. CHAUFFARD, la différenciation d'une forme (ictère hémolytique acquis) où la résistance globulaire n'est abaissée que pour les hématies déplasmatisées (WIDAL et ABRAMI).

Ces derniers travaux sont complétés dans les années qui suivent, et en 1909 M. BRULÉ montre dans sa thèse quels sont les caractères cliniques et hématologiques de cette affection.

Enfin, en 1911, MICHELI fait splénectomiser un de ses malades, pensant qu'avec la rate on enlèverait peut-être l'agent principal de l'hémolyse.

Voici résumée, son observation :

OBS. XXXV (MICHELI). — Homme de 22 ans, dont les troubles avaient débuté trois ans auparavant. Et 1910 on notait une anémie prononcée, une hypertrophie de la rate qui dépassait la ligne ombilicale et un gros foie. Légère coloration ictérique des téguments, sans symptômes d'intoxication biliaire. Les urines riches en urobiline ne contiennent pas de pigments biliaires ; fèces foncées.

Le sang présente en mai 1911 :

Gl. r.	2.100.000
Gl. bl.	2.500
Hém.	35 %
Rétic.	30 %

Résistance globulaire : $H_1 = 0,54$ $H_2 = 0,34$.

La splénectomie est pratiquée le 23 mai 1911.

Un mois après l'intervention, excellent état général ; le foie a repris un volume normal ; l'ictère a disparu. Le sang présente :

Gl. r.	4.500.000
Gl. bl.	
Hémogl.	70 %
Rétic. : taux normal	(1 % ?)
$H_1 = 46$.	

C'est, en effet, surtout pour obvier aux dangers d'une anémie subite intense que l'on pratique la splénectomie dans l'ictère hémolytique congénitale.

Il survient, en effet, par crises, une déglobulisation qui peut faire tomber le taux des gl. r. à 1.000.000 et au-dessous. L'ictère lui-même ne donne pas lieu à des troubles, il n'y a pas d'intoxication par les sels biliaires : ni bradycardie, ni prurit. « Ces sujets sont plus ictériques que malades » comme le dit le Prof. CHAUFFARD.

Nous possédons deux observations personnelles d'ictère hémolytique. Si la longue et bénigne évolution est certaine dans ces deux cas, l'élément congénital l'est moins, le facteur *constitutionnel* sur lequel insiste tant NAEGELI n'a pu être démontré. Aucune de nos deux malades ne présentait les stigmates constitutionnels sur lesquels insiste cet auteur : ni aspect infantile, ni crâne défoncé, le nez élargi. D'autre part, on retrouve un caractère très particulier des hématies : elles sont sphériques, sans dépression au centre, de très petites dimensions (microcytes) et souvent très fortement polychromatophiles.

Obs. XXXVI. — M^{me} Boug..., 53 ans, entre à la Maison Municipale Dubois le 5 oct. 1929 pour ictère et anémie.

Ces symptômes remontent à 1924, survenant à l'occasion d'une petite hémorragie hémorroïdaire.

L'ictère devient très foncé quelques mois après cet incident, à l'occasion d'une querelle de famille. Elle se sent asthénique, essoufflée au moindre effort, ses muqueuses sont très décolorées. En décembre 1924 elle fait un séjour de trois semaines à l'hôpital de la Pitié où l'on découvre une splénomégalie considérable, et on dit à la malade qu'elle n'a pas de « maladie de foie », nous raconte-t-elle. On lui fait trois séances de rayons ultra-violets sur la rate, mais elle présente des vomissements et de la fièvre après ce traitement.

Après un repos de six semaines à la campagne elle est améliorée. Le teint reste subictérique, devient franchement ictérique à l'occasion d'un surmenage en 1926. Enfin en 1928 surviennent des crises douloureuses, la douleur siégeant parfois au niveau de la rate, parfois dans la région hépatique. L'ictère fonce pendant ces crises, les urines sont presque brou de noix aussitôt après, les selles ne sont jamais décolorées ; ni prurit, ni bradycardie.

A l'examen on constate, outre un ictère net et une pâleur glauque des muqueuses, une splénomégalie, atteignant presque l'ombilic. Le foie, sensible à la palpation mesure 16 cm. sur la ligne mammelonnaire. Il n'y a pas d'ascite ni de circulation collatérale. Rien aux poumons ; souffle anorganique au cœur. T. A. 17-6 1,2 (Vaquez). Les urines ne contiennent ni sucre ni albumine, ni pigments biliaires mais de l'urobiline.

L'exploration fonctionnelle du foie montre :

Index biliaire plasmatique : 7,2.

Réaction Weltmann et Jost : B. T. = 6,48 B. D. = 6,48 % A = 6.

Réaction Hymans v. d. Bergh : retardée 3'.

L'examen du sang présente :

Résistance globulaire, sang total : $H_1 = 56$ $H_2 = 46$.

Résistance globul. sang déplasmatisé : $H_1 = 54$ $H_2 = 50$.

Gl. r.	2.100.000
Gl. bl.	7.000
Hémogl.	70 %
Rétic.	14 %

Qualitativement, on trouve une forte réaction médullaire :

Poly. neu.	70 %
Poly. éos.	6 %
Poly. baso.	1 %
Gd. mono.	9 %
Moy. mono.	5 %
Lympho.	4 %
Métamyélo.	3 %
My. neu.	4 %

et 1 hématie nucléée pour 100 leucocytes.

La malade refuse de se soumettre à la splénectomie. La connaissant comme source de réticulocytes, nous allons la voir chez elle trois mois plus tard. Elle s'est reposée et va bien, mais demeure ictérique.

A ce moment :

Gl. r.	2.440.000
Gl. bl.	7.500
Hémogl.	68 %
Rétic.	18 %

A l'occasion de cette visite nous avons pu examiner sommairement quelques membres de sa famille, dont aucun n'était ictérique ou anémique, seule une nièce présentait un teint foncé, presque mulâtre, mais sans variations de nuance, semble-t-il.

Voici, au contraire, une malade qui accepta la splénectomie, et qui fut guérie par cette intervention.

OBS. XXXVII. — Notre deuxième observation de ce groupe concerne une cuisinière de 32 ans, dont l'ictère a apparu à l'âge de 15 ans, au moment de ses premières règles. Depuis elle présente du subictère, des nausées, des vertiges à presque chaque période menstruelle. Depuis deux ans, elle remarque que son ventre augmente de volume (« elle ne peut plus mettre son corset »), mais n'accuse aucun trouble sauf une très grande fatigue les jours où elle travaille plus que d'habitude.

A l'examen, on trouve une malade à teint ictérique net surtout aux conjonctives. La rate mesure 16 cm. sur la ligne de chauffard. Le foie est abaissé mais non hypertrophié. Les poumons, le cœur, le système nerveux sont normaux. Il existe un très léger œdème des chevilles après une station debout prolongée.

Les urines ne contiennent ni sucre ni albumine.

Urobiline + + +. Réaction de Hay négative.

L'examen de sang révèle : le 17 février 1930.

Gl. r.	3.110.000
Gl. bl.	13.400
Hémogl.	61 %
Rétic.	30 %

L'équilibre leucocytaire est normal. On note une légère anisocytose avec prédominance de microcytes.

Résistance globulaire sang total : H_1 52 H_2 56.

Temps de saignement 3', temps de coagulation 5' 1/2.

La splénectomie est acceptée par la malade et effectuée le 4 mars par M. le Dr TOUPET, hôpital de Bicêtre.

L'examen de sang du 6 mars révèle :

Gl. r.	3.510.000
Gl. bl.	10.000
Hémogl.	55 %
Rétic.	17 %

Nous revoyons la malade le 8 mars ; sans fièvre, déjà un peu déjaunie. Son sang présente à cette date :

Gl. r.	4.420.000
Gl. bl.	14.500
Rétic.	11,5 %

Enfin le 13 mars, neuf jours après l'intervention on trouve :

Gl. r.	4.500.000
Gl. bl.	12.500
Hémogl.	70 %
Rétic.	7 %

Après la cicatrisation de la plaie opératoire, la malade part à la campagne, nous la revoyons le 7 juin, engraisée de 2 kgr. 500, ayant un teint rosé, se portant très bien.

Gl. r.	5.550.000
Gl. bl.	9.000
Hémogl.	80 %
Rétic.	3 %

OBS. XXXVIII. — Dans notre troisième observation d'ictère hémolytique il s'agit d'un jeune homme de 20 ans, d'aspect gracile, cependant sans stigmates d'insuffisance glandulaire. Il a un teint plus bronzé que jaune mais du subictère net des conjonctives. Sa mère, qui l'accompagne, nous met au courant de l'histoire clinique.

C'est à l'âge de deux ans que sont apparues les premières poussées d'ictère, accompagnées de fièvre, mais sans troubles digestifs notables. A 4 ans, l'ictère est très foncé pendant une semaine, on pense à un ictère catarrhal, sans étiologie précise. Le Prof. BAR examine l'enfant à ce moment et trouve déjà une rate augmentée de volume. A 12 ans, ce sujet qui est de nationalité grecque contracte le paludisme, il présente quatre accès distincts guéris par la quinine. La rate diminue de volume à la suite du traitement mais reste grosse. Survient un urticaire, provoqué régulièrement par l'ingestion de crustacés. L'ictère ne fonce pas spécialement au moment des crises.

En 1925 on fait des réactions de Wassermann à ce jeune homme et à ses parents : réactions négatives.

On l'envoie quelque temps en montagne : l'ictère augmente considérablement chaque fois que des exercices sportifs entraînent une fatigue.

En 1929 après une grippe où l'ictère est frappant, le malade fait un séjour au bord de la mer, il est très amélioré, avec un teint rosé. Puis, en juin 1930 il prépare un examen, se fatigue et redevient très jaune. En même temps la rate devient légèrement douloureuse, pesante dans l'abdomen.

Examen du 28 juin 1930.

Poids 54 kgr. Teint jaune brunâtre. Rate volumineuse, mesurant 14 cm. sur la ligne de Chauffard.

Foie un peu augmenté de volume. Cœur, poumons, système nerveux normal. Urines rougeâtres sans albumine, ni sucre. Réaction de Hay négative. On n'a pas eu le temps de faire doser l'urobiline.

Le sang présente :

Gl. r.	3.300.000
Gl. bl.	5.000
Rétic.	6,5 %
Poly. neu.	48 %
Poly. eos.	1 %
Poly. baso.	1 %
Gd. mono.	21 %
Moy. Mono.	12 %
Lympho.	6 %
Türk.	1 %

Résistance globulaire sur sang total : H₁ 56 H₂ 54 H₃ 48.

Cette observation est très typique d'ictère hémolytique congénital. L'ictère suit le malade comme son ombre, *s'aggravant* quand la résistance physique est diminuée (*Sports, Travail intellectuel*).

La splénectomie n'est pas acceptée pour le moment : ce sont cependant les cas de ce genre où elle donne les meilleurs résultats. Nous n'avons pas pu mettre en évidence un seul facteur : celui de la nature *familiale* de l'affection, tout ictère étant nié dans les antécédents familiaux.

RÉTICULOCYTES DANS L'INTOXICATION PAR LA PHÉNYLHYDRAZINE

L'action hémolysante de la phénylhydrazine et de certains de ses sels est connue depuis longtemps. Déjà en 1885 HOPPE-

SEYLER étudia le mécanisme de cette action destructrice, les globules rouges étant transformés en amas brunâtres homogènes après injection de fortes doses de phénylhydrazine à des lapins. Des examens spectroscopiques lui permirent d'observer la fixation de cette substance sur l'hémoglobine, fixation qui se fait uniquement en milieu anaérobie. La combinaison ainsi élaborée donnerait des bandes d'absorption dans le bleu et le vert du spectre : elle se forme *in vitro*, et l'on admet qu'*in vivo* le mécanisme est analogue.

Employée en thérapeutique pour traiter les polyglobulies, surtout par EPPINGER et KLOSS (1918) la phénylhydrazine et ses sels furent de nouveau étudiés par GIFFIN et ALLEN au point de vue de l'intensité de la destruction globulaire déterminée par des doses connues. D'après ces auteurs, si l'on injecte à un animal 1 milligramme de cette substance par kilogramme de poids, on obtient une destruction globulaire de 38.000 gl. r. par millimètre cube en moyenne ; ce chiffre est surtout constant si on répète l'injection trois jours de suite.

ALLEN et ses collaborateurs remarquent l'intégrité fonctionnelle de la moelle osseuse, au cours de très longues intoxications soit par petites doses quotidiennes, soit par doses à intervalles éloignés. Leurs courbes sont très démonstratives, mais il ont omis d'examiner la réticulocytose, c'est-à-dire apparition dans le sang périphérique de réticulocytes, qui sont des hématies granulofilamenteuses de formation hâtive et imparfaite. Lorsqu'après quelques semaines on cesse brusquement l'intoxication, la régénération se fait jusqu'à atteindre à peu près le chiffre initial de globules rouges. Puis une nouvelle anémie se produit, comme si l'organisme était encore sous l'influence du rythme alternatif de destruction et de régénération globulaire. Cette anémie non provoquée est d'ailleurs passagère et se répare parfaitement.

Au point de vue qualitatif, et nous ne parlons pour l'instant que des globules rouges, l'apparition d'hématies jeunes, parfois avec persistance du noyau est déjà signalée en 1900 par KAMINER et ROHNSTEIN. Ces auteurs croyaient pouvoir obtenir par

l'anémie expérimentale à la phénylhydrazine une anémie chronique, type Biermer : les fortes doses de ce poison tuaient leurs animaux et les faibles doses ne provoquaient qu'une anémie passagère. Mais ils insistent sur l'apparition dans le sang périphérique d'hématies à granulations basophiles. Malheureusement ils ne donnent point leur technique, et nous ne savons pas s'il s'agit de réticulocytes (visibles seulement après coloration *supra vitale*) ou d'érythrocytes ponctués, visibles après *fixation*.

KAMINER et ROHNSTEIN n'explorent pas uniquement l'hémodiagramme au cours des intoxications *aiguës*. Ils conservent quelques lapins pour étudier l'action de l'intoxication *chronique*, injectant 0 gr. 01 de phénylhydrazine par jour et par animal de taille moyenne, et cela pendant 10 à 15 jours. Quand l'animal est très anémié, on voit apparaître des normoblastes et même des mégakaryoblastes dans le sang circulant. Mais après cessation du traitement l'animal guérit de son anémie, et les auteurs constatent que la progressivité fatale de l'anémie pernicieuse de Biermer n'est pas reproduite par l'intoxication même prolongée par la phénylhydrazine.

Tous les auteurs sont d'accord au sujet du comportement de la courbe leucocytaire au cours de cette intoxication. Dans les expériences où l'on emploie de fortes doses du poison, une leucopénie manifeste s'installe. Avec de très petites doses répétées, on obtient une leucocytose entre 20 et 30.000 gl. bl. puis leucopénie progressive ne dépassant pas un minimum de 3.000 gl. bl. par millimètre cube.

Si nous avons repris l'étude hématologique de cette intoxication par les sels de la phénylhydrazine, c'est que au cours d'expériences faites dans un autre but, nous avons été frappé par la réticulocytose considérable que présentent les animaux dès les premières injections.

Nous avons effectué des intoxications *aiguës*, par forte dose unique, en variant la voie d'introduction.

Lapin 1, poids 3 kgr. 400. Reçoit le 10 nov. 1931 par injection sous-cutanée 3 cmc. d'une solution aqueuse de chlorhydrate de phénylhydrazine à 1 % ; ce qui représente 0 gr. 1 de cette substance par

kgr. d'animal. La numération globulaire effectuée quelques minutes avant l'ingestion donnait comme chiffre de départ : 5.280.000 gl. r., 7.200 gl. bl. et 2 % de réticulocytes.

Le 11 nov. le lapin est légèrement subictérique, mais ne semble pas malade. La numération donne : 1.800.000 gl. r. et 4.950 gl. bl. ; le taux des réticulocytes s'élève à 7 %.

Le 12 nov. injection sous-cutanée de 3 cmc. de la solution à 1 % de chlorhydrate de phényl-hydrazine.

Le 13 nov. on trouve 2.190.000 gl. r. et 9.150 gl. bl. Les réticulocytes sont au nombre de 26 %. Il est bien entendu que ce pourcentage de réticulocytes s'établit pour cent globules rouges ; il résulte d'une moyenne faite sur 700 ou 1.000, en comptant les champs avec un oculaire mensorateur. Sur les étalements colorés on trouve 2 normoblastes pour cent leucocytes et quelques pérythroblastes orthobasophiles, mais moins de 1 %.

Formule leucocytaire :

Poly. amphi.	75 %
Poly. éosino vrais.....	1 %
Poly. baso.....	7 %
Gd. mono.....	4 %
Moy. mono.....	20 %
Lympho.	9 %

Le 14 nov. l'animal est sacrifié par saignée à la carotide. Les préparations (étalements) de la moëlle sternale révèlent une activité hématopoïétique intense, prédominant sur la série blanche. Malgré l'absence de formes jeunes dans l'équilibre leucocytaire du sang périphérique, on observe dans la moëlle de nombreux myélocytes amphi et éosmophiles ainsi que des myéloblastes. Il y a aussi des cellules souches de la série rouge et quelques normoblastes, ainsi que des mégaloctes très basophiles, ne possédant déjà plus de noyau. Nous verrons plus loin les altérations viscérales présentées par cet animal.

La rate présente une congestion intense de la pulpe avec macrophagie secondaire. Tuméfaction anormale et reviviscence embryonnaire des îlots de corpuscules avec nombreux lymphoblastes. Fibrose diffuse intense.

D'autres animaux traités de la même façon présentèrent à peu près les mêmes courbes de globules rouges, de leucocytes, et surtout une réticulocytose de réparation, proportionnée à

l'intensité de la déglobulisation. L'examen de la moelle osseuse et de la rate montre, d'autre part, une sorte de coup de fouet produit par ce poison hémoto- destructeur sur l'activité hémato-poïétique, mais cette excitation semble plutôt être due à la déglobulisation qu'à une action stimulante directe exercée sur l'appareil hémato-poïétique.

La rapidité avec laquelle agit le chlorhydrate de phénylhydrazine est bien démontrée dans les intoxications suraiguës. Prenons, par exemple, dans la série des animaux où la voie d'introduction de la substance fut parentérale, le lapin n° 5.

Lapin 5, pesant 3 kgr. Le 17 déc. : 4.550.000 gl. r. et 8.000 gl. bl. et 1,2 % réticulocytes. On fait une laparatomie et l'on injecte 3 cmc. de solution aqueuse de chlorhydrate de Phényl-hydrazine à 1 % directement dans un des rameaux mésentériques de la veine porte. Le lendemain, 17 déc. l'animal est sacrifié par saignée. La numération globulaire faite dans le sang artériel donne : 3.450.000 gl. r. et 8.000 gl. bl., avec 3 % de réticulocytes (coloration postvitale). La réaction de H. van den Bergh est de 0,20, le sérum n'est pas hémolysé. La moelle présente quelques normoblastes, surtout abondants dans la moelle sternale, pas encore dans la moelle fémorale. La rate est très congestionnée, de volume normal et présente une diminution de la densité lymphocytaire. Surcharge pigmentaire légère.

Le lapin n° 6, qui, pesant 3 kgr., reçoit le 15 janvier 1932 1 cmc. de cette solution de Phényl-hydrazine par voie portale, élabore une réticulocytose de 11 % en 3 jours, sans présenter encore une anémie marquée c'est-à-dire 4.105.000 gl. r. et 3.400 gl. bl. On lui injecte alors le 18 janvier encore 3 cmc. de la solution sous la peau. La numération globulaire donne le 20 janvier : 2.800.000 gl. r. et 2.950 gl. bl. avec 17 % réticulocytes.

On le sacrifie par saignée à la carotide, recueillant du sang pour doser la bilirubine. L'Hymans v. d. Bergh s'élève à 0,43.

Temps de coagulation ce jour 3'.

Cette fois, les étalements de moelle sternale révèlent déjà quelques normoblastes, mais surtout de grandes cellules souches immatures ; macroscopiquement, son aspect était d'ailleurs gris rosé, teinte pâte de foie gras ; elle n'avait pas eu le temps d'élaborer une reviviscence embryonnaire complète.

Dans la série des animaux ayant subi une intoxication chronique le lapin 4 est typique.

Le 3 déc. 1931 il pèse 3 kgr. ; possède 5.220.000 gl. r. par mmc. avec 8.400 gl. bl. et 0,3 % de réticulocytes. Il présentait un temps de coagulation de 4' avec caillot normal. Pas de bilirubinémie, comme on pouvait s'y attendre, car on sait depuis les travaux de PEYTON ROUSS et Mc MASTER que ces animaux n'élaborent jamais spontanément de bilirubine décelable dans le sang circulant. L'intoxication par le chlorhydrate de phényl-hydrazine (en solution aqueuse à 1 %) est commencée par des doses très faibles : 0 gr. 01 par kgr. d'animal, la première injection sous-cutanée a lieu le 5 déc. 1931. L'examen de sang le 7 déc. montre gl. r. 2.580.000, gl. bl. 7.000, réticulocytes 5%. Temps de coagulation 4' avec irrétractilité du caillot. Le 8 déc. nouvelle injection sous-cutanée de 3 cmc. de la solution. Le 10 déc. on note : gl. r. 2.740.000, gl. bl. 13.200, réticulocytes 38 %, coagulation 3', avec rétraction normale du caillot. Le 12 déc. l'examen du sang est peu modifié : gl. r. 2.500.000, gl. bl. 9.000 mais 39 % de réticulocytes, avec formes à substance granulo-filamenteuse diffuse et en couronne.

Temps de coagulation 4' 1/2, rétraction normale. Nous ne pensons pas, à ce propos, que des écarts de 1' à 1/2' dans le temps de coagulation aient une importance quelconque.

On injecte le 14 déc. encore 3 cmc. de la solution de chlorhydrate de phényl-hydrazine : gl. r. 2.440.000, gl. bl. 11.000 et 41 % réticulocytes, en même temps que ce chiffre énorme de réticulocytes on note une anisocytose marquée avec macrocytes pâles et des normoblastes très rares. On laisse la réparation sanguine s'établir un peu, espaçant un peu les injections. Le 17 déc. on trouve 3.700.000 gl. r. et 3.200 gl. bl. avec 14 % réticulocytes. Enfin le 22 déc. : 3.420.000 gl. r., 9.500 gl. bl. et plus que 4,5 % réticulocytes.

On reprend les injections de chlorhydrate de phényl-hydrazine le 4 janvier, dose habituelle de 3 cmc. de la solution aqueuse à 1 % ; ce même jour, avant l'injection, le chiffre des gl. r. était remonté à 5.145.000, avec seulement 2 % réticulocytes et 8.000 gl. bl. Le 9 déc. on compte 4.450.000 gl. r., et 500 gl. bl. et de nouveau 7,2 % réticulocytes. On laisse récupérer un peu, et le 16 déc. on note 5.670.000 gl. r., et 10.000 gl. bl., alors que le chiffre des réticulocytes a baissé à 4,75 %. Ce même jour on injecte de nouveau 1 cmc. de phényl-hydrazine.

Le 18 déc. on sacrifie cet animal par saignée à la carotide. Le sang coagule en 3' 1/2 ; la rétraction du caillot est normale. L'autopsie révèle une rate de 9 gr., l'examen histologique montre de la fibrose diffusée avec zones de congestion.

La moelle osseuse montre, sur des frottis, une reviviscence active :

myélocytes amphophiles, myéloblastes. Aussi des normoblastes à protoplasma souvent basophile, ainsi que des cellules souches indifférenciées.

En résumé :

L'intoxication au chlorhydrate de phénylhydrazine, administré par voie sous-cutanée ou par voie parentérale, provoque une destruction globulaire intense, réparée aussitôt par une suractivité hématopoïétique de la moelle osseuse. Celle-ci est démontrée par les crises réticulocytaires et par l'aspect de la moelle elle-même, en pleine reviviscence. D'autre part, la surcharge pigmentaire et ferrique de la rate et du foie témoigne de la destruction sanguine.

Notons enfin, que si l'on traite les érythémies graves par la phénylhydrazine, celle-ci est administrée par voie buccale à doses très minimes et ne risque point de déterminer des intoxications.

CHAPITRE VI

APERÇU GÉNÉRAL

Nous avons montré quelle était la signification biologique du réticulocyte en tant que cellule : c'est-à-dire hématie jeune, de formation hâtive et imparfaite. Etudions maintenant quelle est la signification biologique de la réticulocytose en tant que processus réactionnel.

L'essaimage de réticulocytes dans la circulation périphérique traduit une activité hématopoïétique anormale de la moelle osseuse.

Le caractère anormal de la suractivité médullaire est avant tout *quantitatif* : c'est une production exagérée de cellules appartenant à la série rouge, leur évolution étant non complètement terminée. Mais ces cellules ne sont pas par elles-mêmes des monstruosités : à l'intérieur de la moelle elles seraient devenues des globules rouges normaux. Toute hématie passe par le stade nucléé et réticulo-filamenteux, avant d'entrer en circulation sous l'aspect que nous connaissons.

Ce n'est que dans l'ANÉMIE PERNICIEUSE PROGRESSIVE de BIERMER que l'on trouve une anomalie *qualitative* dans l'élaboration intramédullaire des globules rouges : le mégalo-blaste. Son noyau énorme, vacuolaire « früh embryonal » comme dit NAEGELI, est incapable de se transformer par maturation en hématie normale.

Tant que la moelle est bourrée de mégalo-blastes il n'y a pas de réticulocytes en circulation.

Nous rappelons ici les travaux de PEOBADDY, ses biopsies successives de moelle tibiale au stade de rechute et d'amélioration de l'anémie de Biermer et après le traitement de Whipple.

Qu'on nous permette la comparaison suivante, empruntée à l'obstétrique :

Les réticulocytes ne sont pas des monstres : ce sont seulement des prématurés.

Le premier renseignement pratique que nous pouvons tirer de l'observation des courbes réticulocytaires est donc : évaluation de la capacité réactionnelle de la moelle osseuse dans sa fonction hématopoïétique.

Cette observation nous permet encore de faire une autre constatation : elle nous renseigne sur l'importance du déficit érythrocytaire dans la circulation périphérique. Dans une certaine mesure seulement, d'ailleurs, car la chlorose, par exemple, s'accompagne d'un déficit qualitatif des hématies : carence en fer. Or, le taux des réticulocytes est peu élevé au cours de cette maladie, et n'augmente pas quand un traitement ferrugineux vient améliorer la valeur globulaire de la malade. Dans les leucémies sans anémie, dans la maladie de Hodgkin et dans les cancers des os, la réticulocytose, souvent considérable, nous avertit seulement de l'existence d'une irritation médullaire. Au contraire, dans l'évolution des anémies, la courbe réticulocytaire est un critérium très précieux.

RÉTICULOCYTOSES PASSAGÈRES.

Nous étudierons d'abord les *réticulocytoses passagères* au cours des processus anémiques.

A ce propos, rappelons la loi de Minot et Murphy, déjà citée plus haut :

« L'importance de la réticulocytose dans la phase de réparation des anémies est en raison inverse du chiffre des globules rouges par mmc. de sang ». On connaît leurs belles expériences montrant qu'il existe une sorte de saturation en globules rouges du sang périphérique, au seuil de laquelle on n'obtient plus de crise réticulocytaire, quel que soit le traitement employé. Deux exemples illustrent ce fait.

1° Au cours des anémies de Biermer traitées par la méthode de Whipple, après une première crise réticulocytaire, on ne peut en obtenir en seconde, même en augmentant la quantité de foie ingéré, à condition que le sujet en ait absorbé la dose effective maxima dès le début du traitement.

2° Chez le sujet normal, soumis au traitement de Whipple, l'ingestion quotidienne même de très fortes doses de foie ne provoque jamais de réticulocytose.

L'évolution des réticulocytoses passagères déterminées par divers traitements (As, Fe, vitamines, légumes crus riche en carotène et bien entendu foie cru) a été étudiée par KEEFER et YANG au cours d'un très grand nombre d'affections diverses. Leurs statistiques sont le résultat de plusieurs années de travail, et ils ne citent que des auteurs spécialisés dans cette question.

L'utilisation des courbes de réticulocytes au point de vue clinique a été exposée d'une façon remarquable par ISTOMANAVA dès 1916, alors qu'on ne connaissait pas encore la méthode de Whipple. Il observe des poussées « en éclair » de réticulocytes au cours de diverses anémies, tant secondaires que primitives, sous l'effet de divers traitements. Parfois, l'augmentation du taux des hématies par mmc. était insignifiante. Néanmoins, le traitement avait agi en coup de fouet sur la moelle osseuse, réveillant un instant son dynamisme érythropoïétique latent.

Il est des circonstances où cette puissance érythropoïétique de la moelle osseuse est définitivement éteinte. Nous sommes alors en présence d'une *anémie aplastique*. Ses causes sont mal connues, sans doute multiples, comme le pense FRANK lui-même qui en a donné une description magistrale. ,

Certaines infections, peut-être certaines constitutions déterminent une incapacité de réparation hématopoïétique, ou parfois l'incapacité d'une *élaboration* d'éléments nouveaux. Dans ce dernier cas (4 obs. de FRANK) l'évolution est lente, fatale, sans qu'on puisse saisir un facteur de destruction dans le sang circulant. C'est une véritable mort fonctionnelle de la moelle. D'abord les polynucléaires diminuent ; le sujet se défend mal contre les

infections. Puis le taux des plaquettes (thrombocytes) baisse. Le malade commence à saigner, par suite de cette thrombopénie. Les hémorragies, souvent des suintements sanguins discrets et continus, font baisser le taux des hématies. Jamais on n'observe de crise réticulocytaire : la perte de sang n'est pas réparée par la moelle osseuse. Si on réussit à arrêter les hémorragies, l'évolution de la maladie peut se ralentir ; mais des globules rouges s'usent tous les jours et ne sont pas remplacés. Aucun traitement n'arrive à stimuler la moelle : ni la radiothérapie, ni les irradiations d'autre nature, ni le foie de veau, ni le fer, ni l'arsenic, ni la protéinothérapie. A l'autopsie, la moelle est grasseuse partout, même dans les os plats où les foyers rouges sont les derniers à disparaître. Il y a une sidération totale et définitive de l'hématopoïèse.

La réticulocytose n'est pas un élément de diagnostic, car les causes des anémies sont multiples, et toutes ne réagissent pas au même traitement. Le foie peut échouer où l'arsenic ou le Hg vont réussir : telles les anémies infantiles syphilitiques. Le fer peut améliorer les anémies type chlorotique, décrites en Amérique, où le traitement de Whipple se montrait insuffisant. L'huile de foie de morue, les vitamines peuvent changer le cours de certaines anémies par carence surtout bien étudiées par Miss L. WILLS, à Bombay et KEEFER à Peiping. Enfin la quinine arrêtera la destruction sanguine dans le paludisme. Supposons que le diagnostic étiologique de certains de ces cas n'ait pu être fait : on devra tâtonner pour administrer un traitement efficace. La surveillance quotidienne du taux de réticulocytes permettra de se rendre compte, et de l'efficacité d'un traitement et de la puissance régénératrice de la moelle osseuse.

RÉTICULOCYTOSES PERMANENTES.

Comment interpréter maintenant les réticulocytoses permanentes ?

Disons d'abord qu'elles sont rares. La plupart du temps elles relèvent d'un processus d'hémolyse chronique. Parfois elles

*
relèvent d'une irritation médullaire incessante, sans déperdition sanguine périphérique.

On constate en tous cas, que tant que la moelle n'est pas lésée dans ses tissus propres, elle possède une fonction érythropoïétique quasi inépuisable.

Citons deux processus pour illustrer ces constatations.

L'expérimentation nous fournira le premier exemple : nous voulons parler de la réticulocytose provoquée par l'administration de phényl hydrazine chez le lapin. Ici nous pouvons doser très exactement les effets du poison. Une première injection (dose moyenne) déterminera une hémolyse ; celle-ci sera compensée par une crise réticulocytaire. Dès que le taux des hématies remonte, on fait une nouvelle injection, suivie d'un nouvel effort de réparation hématique qui se traduit encore par une réticulocytose. On peut ainsi provoquer un état réactionnel chronique de la moelle osseuse, qui s'étendra même dans une certaine mesure à la série blanche. Dans ce cas, la réticulocytose permanente est constituée par une série de crises réticulocytaires passagères. Arrêtons les injections toxiques : les réticulocytes tomberont progressivement à leur taux normal, les hématies atteindront leur chiffre initial, et rien ne permettra plus de constater l'existence de l'intoxication, rien dans le simple examen de sang. Histologiquement on trouvera une surcharge ferrique intense dans divers organes, mais tant que l'animal vit, les examens sanguins fonctionnels révéleront des chiffres normaux.

Comme deuxième exemple, nous choisirons l'ictère hémolytique congénital. Tant que la rate exerce son action hémolysante, la moelle osseuse répond par une réparation hâtive et imparfaite, en émettant dans la circulation des réticulocytes en nombre considérable. On fait une splénectomie : il n'y a plus de destruction globulaire périphérique, et progressivement les réticulocytes reviennent à un taux normal. Il arrive cependant, lorsque l'ictère hémolytique a persisté pendant des années, que l'élaboration érythrocytaire ne reprenne que lentement son rythme normal. L'habitude acquise de lancer en circulation des hématies immatures demeure en la moelle encore un certain temps.

Inversement, comme l'ont montré ROBERTSON et ses collaborateurs, quand on a parésié l'activité hématopoïétique de la moelle par de nombreuses transfusions chez le lapin normal, une forte saignée ne provoquera pas de crise réticulocytaire, ou une crise retardée (18^e j. au lieu du 5^e). La moelle a perdu son rythme de réparation hématique.

Les réticulocytoses permanentes observées au cours des leucémies, sans anémie notable, relèvent, non plus d'un processus de destruction globulaire périphérique ou de réparation, mais d'une irritation ou suractivité médullaire constante.

C'est surtout au cours des leucémies chroniques que l'on observe un taux élevé de réticulocytes ; cette réticulocytose s'installe progressivement. Nous avons eu l'occasion de suivre l'évolution d'une demi-douzaine de leucémies chroniques, tant myéloïdes que lymphoïdes ou à splénocytes. Les phases d'amélioration, après radiothérapie par exemple, montrent une régression des leucocytes très immatures, une diminution des normoblastes et de ces très volumineux macroblastes, si fréquents surtout au cours des leucémies myéloïdes. Pourquoi ne pas appeler ces éléments mégakaryoblastes ? Mais parce que seul leur noyau est très gros et très peu différencié : il est entouré d'une bande concentrique de protoplasma, parfois basophile. La coloration vitale y révèle la présence de substance granulo-filamenteuse. Jamais ils ne se présentent sous forme de très grande cellule rose pâle, à noyau vésiculeux en position excentrique. Les belles planches en couleurs qui illustrent le traité d'hématologie de NAEFELI, et les tables de l'atlas de SCHLEIP reproduisent ces éléments, dont nous possédons du reste de nombreux exemplaires dans nos préparations.

Prenons par exemple une leucémie myéloïde en poussée leucocytaire : on assistera à l'essaimage dans le sang circulant de nombreux normoblastes, proérythroblastes, et la coloration vitale montrera un taux de réticulocytes pouvant atteindre 10 %. Même après une radiothérapie énergique qui aura raison de l'hyperleucocytose et de la myélémie, la réticulocytose oscillera longtemps autour de 2, 3 même 4 %. La moelle osseuse ayant

acquis le rythme d'une surproduction hématopoïétique ne peut abandonner ou modifier ce rythme que progressivement. Plusieurs auteurs, tant en France qu'à l'étranger, ont attiré l'attention sur l'existence d'une polyglobulie préleucémique. L'irritation fonctionnelle de la moelle se traduisait déjà par une érythropoïèse exagérée. Rien ne nous permet de nous rendre compte du déterminisme intime de ces réactions. Il nous est seulement permis d'imaginer qu'ici encore il s'agisse d'agressions répétées des centres hématopoïétiques, se traduisant par des ondes de réticulocytes de plus en plus rapprochées, jusqu'à présenter le tableau d'une réticulocytose permanente.

La même hypothèse peut expliquer les poussées réticulocytaires au cours de la maladie de Hodgkin, où l'on ne peut les attribuer à une déglobulisation périphérique.

Nous n'insisterons pas sur la réticulocytose que l'on observe dans certains cancers, surtout des os. NAEGELI admet qu'il pourrait s'agir d'une compression de la moelle osseuse, déterminant une irritation des centres hématopoïétiques. Nous-même possédons toute une collection d'observations de cancéreux où l'on trouve 0,03 % de réticulocytes chez les uns et 5 % chez les autres ; et ces chiffres sans rapport avec l'anémie, souvent absente. Les néoplasmes gastriques sont ceux qui s'accompagnent les plus fréquemment d'anémie, sans signes de régénération rouge. Ces sujets présentent souvent de l'anachlorhydrie, tout comme les anémies de Biermer. Mais nous n'avons encore aucun fait incontestable pour conclure de ce rapprochement un rapport entre l'activité médullaire et l'anachlorhydrie.

Comment allons-nous pouvoir juger le dynamisme réparateur « en puissance », en ce qui concerne la série rouge ?

On connaît les difficultés techniques qu'entraîne la ponction d'un os pour faire un prélèvement de moelle. L'équilibre leucocytaire ne nous renseigne que sur la série blanche, la présence de normoblastes étant très rare dans le sang périphérique.

La recherche systématique des réticulocytes est la seule méthode de contrôle que nous possédons quant à la puissance érythropoïétique de la moelle.

Son application pratique ? Quelques exemples l'expliqueront.

Comment prévoir le moment où un traitement radiothérapique ou benzolique va déterminer une anémie aplastique ? Par la numération des réticulocytes.

Comment faire le diagnostic d'un ictère hémolytique, surtout congénital ? Par la numération des réticulocytes encore.

Enfin, comment surveiller l'action et le dosage du traitement de Whipple au cours d'une anémie grave, peut-être type Biermer ?

Plus que jamais par la numération des réticulocytes, et l'établissement d'une courbe de chiffres quotidiens.

L'observation des réticulocytes est donc un précieux élément de diagnostic dans quelques cas d'ictères, soupçonnés de nature hémolytique.

Elle renseigne sur l'efficacité du traitement de l'anémie pernicieuse.

Elle peut même servir à formuler un pronostic, dans deux circonstances surtout :

Une anémie grave, mégaloblastique, qui ne réagit pas par une crise réticulocytaire au traitement par le foie cru est devenue « hépato-résistante » et deviendra aplastique, donc mortelle.

Une leucémie qui présentera des crises de réticulocytes au-dessus de 5 % est en voie d'excitation médullaire profonde, s'étendant à la série rouge et en danger de poussée leucémique.

Une disparition totale des réticulocytes au cours d'un traitement par les arsénobenzols, ou la radiothérapie, devra faire craindre une anémie aplastique.

La véritable anémie aplastique de FRANK pourra être distinguée d'états agranulocytaires par l'absence totale de réticulocytes dans le sang circulant.

CONCLUSIONS

On appelle réticulocytes ou hématies granuleuses certains globules rouges dans lesquels la coloration supravitale par un colorant basique révèle la présence d'une substance granulo-filamenteuse.

Les techniques hémolytiques révèlent cette même substance granulo-filamenteuse sous forme d'amas granuleux dans le globule rouge d'où le nom d'hématie granuleuse.

On a employé pour les déceler, deux techniques : la coloration supravitale et la technique hémolytique. Nous avons proposé une technique personnelle, par un « violet vital » (bleu de crésyl et rouge neutre).

La numération des réticulocytes se fait sur étalements de la préparation supravitale en se servant d'un oculaire à micromètre et d'un objectif à immersion.

La substance granulo-filamenteuse se trouve à l'intérieur même du réticulocyte et se compose, selon toute vraisemblance, d'une substance lipoidique voisine de la céphaline et de la myéline.

La substance granulo-filamenteuse est indépendante du noyau des jeunes hématies. Elle n'a aucun rapport avec les granulations observées dans les érythrocytes ponctués au cours de certaines intoxications (saturnisme).

Les réticulocytes sont des hématies jeunes de formation médullaire hâtive et imparfaite.

Chez le sujet normal le taux des réticulocytes dans le sang circulant est de 0,3 à 0,8 pour cent globules rouges. Au cours des réactions érythropoïétiques de la moelle osseuse leur taux peut atteindre 20 % et même 80 %.

On peut observer des *réticulocytoses passagères*, témoins de régénération hématique rapide et active (post-hémorragique, post-anémique, thérapeutique par le traitement de Whipple), et des *réticuloses permanentes* qui représentent l'addition de crises réticulocytaires passagères (ictère hémolytique, intoxication par des substances hémolysantes, saignées répétées). Dans le cas où la moelle osseuse est épuisée par des irritations prolongées ou trop massives, elle n'élabore plus d'hématies nouvelles, si bien que l'on n'observe pas de réticulocytes dans le sang circulant, c'est le fait dans les anémies aplastiques.

Au point de vue pratique, l'observation de la réticulocytose sert de témoin de la régénération sanguine réparatrice au cours des anémies et en particulier au cours du traitement par le foie de veau.

L'abondance de réticulocytes au cours d'un ictère avec splénomégalie fera faire le diagnostic d'ictère hémolytique.

Au point de vue biologique une réticulocytose dépassant 5 % témoigne toujours d'une suractivité hématopoïétique. Elle peut être due à des causes morbides diverses (leucémies, maladie de Hodgkin, métastases médullaires de néoplasmes). Elle pourra être utilisée dans l'examen des globules rouges de même que l'échelle d'Arneth est utilisée pour l'examen des globules blancs.

Vu : le Président de la thèse,

N. FIESSINGER.

Vu : le Doyen,

BALTHAZARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- ACOBÉ (S.). — Studien über den Phenylhydrazinicterus beim Hunde. *Ziegler's Beiträge*, t. 83, 1929, p. 313-318.
- ALEXIEFF (W.). — Différence de structure et de signification des hématies granul. et des érythrocytes ponctués. *Arch. Mal. Cœur*, 1911, t. 4, p. 552-581, 2 pl. en noir.
- ALLEN (Edgar V.) et GIFFIN (Herbert Z.). — Experiments with Phenylhydrazine. II. Studies on renal and hepatic function and erythropoiesis. *Annals of internal Medicine*, I, n° 9, March 1928, p. 677-682.
- ARRIGONI (C.). — Über die metamorphose des Kernes der menschl. Erythrocyten u die Natur der chromatophilen Substanz der Erythrocyten. *Folia Heam*, 1908, p. 449-469.
- ASKANAZY (S.). — Die Körnung der roten Blut Körperchen bei anämischen Zuständen. *Zeit f. Klin med.*, 1907, p. 228.
- Über einen interessanten Blutbefund bei rapid letal verlaufender pernicioser Anemie. *Z. f. Klin med.*, t. XXIII, 1893, p. 80-91.
- AUBERTIN (Ch.). — Réactions sanguines dans le saturnisme expérimental. *Arch. des Mal. du Cœur*, février 1908.
- BAYLISS (L. E.). — Reversible Heamolysis. *J. of Physiol.* (London), t. 59, 1925, p. 48-59.
- BENHAMOU et NOUCHY. — C. R. Soc. Biol., 107, 1931, p. 827-829.
- BENHAMOU (E.), NOUCHY (A.) et RAYNAUD (R.). — Anémie aplastique à forme fébrile et à réaction embryonnaire. *Soc. Méd. Hôp. Paris*, 8 avril 1932.
- BERGLUND (H.), KEEFER et YANG. — Deficiency Anemia in chinese responding to cod liver oil. *Soc. Exp. Biol. of Med.*, t. 26, p. 418, 1929.
- BIFFI (H.). — *Bull. des Sc. Med. Ann.*, t. XXIX, 1908, s. VIII.
- BROOKFIELD (R. W.). — Blood changes occuring during the treatment of malignant disease by lead. *J. of Bact. and Pathol.*, t. 31, p. 277, 299, 1928, 1 pl. couleur.
- BRÜCKNER. — *Archiv für Hygiene*, 1927, XCVIII, p. 95.

- BRULÉ (M.). — Les ictères hémolytiques acquis. *Thèse Paris*, 1909.
- CAPPELL (D. F.). — Intravital and supravital staining, II Blood and organs. *J. Pathol. and Bacteriol.*, t. 32, p. 629-703, 1929
10 pl. en couleur.
- CATHALA (V.) et DAUNAY (R.). — Les hématies granuleuses, la résistance glob. à la naissance et pendant les premiers jours. *C. R. Soc. Biol.*, 1908, p. 801.
- CELLI (A.) et GUARNIERI (E.). — Über die Ätiologie der Malaria Infection. *Fortschritte der Medecin*, 1889, p. 520-534.
- CESARIS-DEMEI (A.). — Studien über die Roten Blut-Körperchen mit den Methoden der Färbung im frischen Zustande, 2 planches couleur. *Folia Heam.*, 1907, oct., suppl. 1, IV, p. 1-30.
- CHAUFFARD (A.) et FIESSINGER (N.). — Recherches expérimentales sur les rapports entre l'hémolyse et les hématies granuleuses. *Soc. Méd. Hôp. Paris*, 29 nov. 1907.
- Ictère congénital hémolytique avec lésions globulaires. *Soc. Méd. Hôp. Paris*, 8 nov. 1907.
- COOKE (W. E.). — Some observations on the Erythrocyte. *British Medical Journal*, 1928, II, p. 790.
- *British Medical Journal*, 1929, t. I, p. 800.
- The Structure of the human Erythrocyte. *British Medical Journal*, 1930, II, p. 433.
- The artificial production of punctate basophilia and reticulation in Erythrocytes. *Am. J. of M. Sciences*, t. 177, 1929, p. 537.
- COWDRY (E. V.). — The reticular material of developing Red Blood cells. *J. Exp. Med.*, t. 33, 1, 1921.
- CUNNINGHAM. — A method for the permanent staining of reticulated red blood cells. *Arch. of Int. med.*, 26, 1920, 405-409, 1 pl. couleur.
- DAMESHECK (W.). — The reticulated Red cells, their Clinical significance. *Boston M. et S. Journal*, t. 194, p. 795 (avril 5), 1926.
- DAVIDSON (L. S. P.) (Edinburgh). — L'anémie perniciose, recherches expérimentales et cliniques. *Le Sang*, n° 3, 1929, p. 276-303.
- DOUGLAS (A. H.) et TANNENBAUM (H.). — The mechanism of secondary Anemia. *Arch. of Int. Med.*, 1930, t. 45, p. 248-256.
- EHRLICH. — *Berl. Klin. Woch.*, 17, I, 1881, t. 18, p. 43. Soc. Méd. Med. Charité. Berlin, séance 9 déc.
- FERRATA (A.). — Über die klinische u morphol. Bedeutung der

- vital färbbaren Substanz u basophile Punctierung der Erythrocyten. *Fol. Heam.*, 1910, 9, fasc. 2.
- FIESSINGER (Noël). — Les ictères toxiques et leur traitement, 172 pages. Maloine, éd., 1913.
- FIESSINGER (N.) et ABRAMI (P.). — *Revue de Médecine*, 10 janvier 1908.
- FIESSINGER (N.) et BRODIN (P.-L.). — La splénectomie dans les processus hémolytiques. *Rapport au XIX^e Congrès français de Médecine*, 1927 (bibliographie complète).
- FIESSINGER (N.), DECOURT (Ph.) et LAUR (C. M.). — Les anémies hémolytiques aiguës. *Le Sang*, t. V, n° 3, 1931, p. 257-270.
- FIESSINGER (N.) et LAUR (C. M.). — Réticulocytes et résidus chromatiniens. *Soc. d'Hématologie*, 4 nov. 1931.
- Recherches expérimentales sur l'intoxication par la phenylhydrazine. *Le Sang*, t. VI, n° 3, 1932, p. 316-322.
- Technique de préparation des hématies granuleuses ou réticulocytes. *Le Sang*, n° 3, 1930, p. 257-267.
- FIESSINGER (N.), OLLIVIER (H.-R.) et LAUR (C.-M.). — A propos d'une forme érythroblastique de la chlorose. *Le Sang*, 1927, n° 3, p. 218-224.
- FIESSINGER (N.) et PEIGNEY (A.). — Des altérations des globules rouges au cours de la colique de plomb. *Arch. des Mal. du Cœur*, 1909, n° 8.
- FISCHER (F.). — Méthode de préparation de la substance granulo-filamenteuse dans les gl. rouges. *Med. Klinik*, 1930, n° 44.
- FOA et MONDINO. — *Giornale di Sc. Naturale*, vol. XIX, 1888.
- FRANKE (K.). — Reticulozyten Zählung in der Zähl-Kammer. *Medez. Klinik*, 1931, n° 12.
- FRIEDLANDER (A.) et WIEDEMER (Ch.). — The reticulocyte count in, normal and in abnormal conditions. *Arch. Int. Med.*, t. 44 1929, p. 209-228 (avec 23 tableaux).
- GABRITSCHESKY (G.). — Klinische Heamatol; Notizen. *Arch. für exp. Pathol.*, 1891, t. 28, p. 83-97.
- GAWRILOW (R.). — Experimentelle Untersuchungen über das Verhältniss verschiedener Reticulozytenformen zu einander. *Folia Heamat.*, t. 38, 1929, p. 246.
- Zur Lehre über die vital färbbare Substanz der Erythrozyten. *Folia Heamatol.*, t. 38, 1929, p. 216.
- GIFFIN (Herbert Z.) et ALLEN (Edgar V.). — Experiments with Phenylhydrazine. I. Studies on the Blood. *Annals of internal Medicine*, I, n° 9, March 1928, p. 655-676.

- GIGLIOTOS. — Il rosso neutrale ed i granuli emoglobinici. *Z. f. wiss Mikorscopie*, 1898, t. XV.
- GLITSCH (W.). — Über die Retikulozyten u ihre diagnostische u prognostische Bedeutung. *Zeit. f. ges. exp. Med.*, 1930, t. 73, p. 692-710.
- GÖRTER (E.) et GRENDAL (F.). — On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood. *Journal of Exp. Medicine*, 1925, XLI, p. 439.
- GRAWITZ (E.). — Über körnige Degeneration der rothen Blutzellen. *D. Med. Woch.*, n° 36, p. 585-587, 1899.
- Die Klinische Bedeutung u exp. Erzeugung körniger Degeneration in den roten Bl. K. *Berl. Klin. Woch.*, 1900, n° 9, p. 181-186.
- GUILLAIN (G.) et TROISIER (J.). — L'hématome pleural traumatique (la biligénie hémolytique locale). *Semaine médicale*, 24 mars 1909.
- HAGLER et HERZ. — Über das Verhalten der Erythropoïese bei Basedowikern u. s. w. *W. Klin. Woch.*, 1930, n° 18.
- HALLIBURTON (W. D.). — The chemical physiology of the cell. *Brit. Med. Journal*, 1893, I, p. 501 et suiv.
- HARROP (G. A.). — *Arch. of Int. Med.*, t. 23, 1919, p. 745-752.
- HAUER (A.). — Die Anordnung der basoph. Punctierung im Gerüstbau des roten Blut Körperchen's. *Deut. Med. Woch.*, 1925, t. I, p. 698.
- HAUR. — Die Anordnung der basophilen Punctierung im Gerüstbau des roten Blüt Körperchen's. *Deut. Med. Woch.*, 1925, p. 698.
- HAUSMANN et PAULI. — L'action des rayons cathodiques sur les Erythrocytes. *Strahlentherapie*, t. 39, fasc. 2, 1928, p. 350-358.
- HAWES. — *Boston N. et S. Journal*, sept., 1909.
- HÉNIZ (R.). — Morphol. Veränderungen der rothen Blut Körperchen durch Gifte. *Virchow's Archiv.*, 1890, t. 122, p. 12-30.
- HERTZ (R.). — Beziehungen der vital farbbaren Granularsubstanz der Roten Blk. zu der basophilen Punctierung derselben. *Folia Heam.*, t. 9, p. 293, t. 10, 419-450, 1910.
- HORSLY. — Methylenblau Färbung der Blut Körperchen. *Munch. Med. Woch.*, 1907, p. 625.
- ISRAEL u PAPPENHEIM. — Über die Entkernung der Säugetiererythroblasten. *Virchow's Archiv.*, 1892, t. 143, p. 419.
- ISTOMANOWA (T. S.). — Über den Gehalt des Blutes an vitalgranulierten Erythrozyten als Mass der Erythropoïese. *Z. f. ges. exp. Med.*, t. 52, 1926, p. 140-149.

- ISTOMANOWA (T. S.). — Experimentelle Untersuchungen über Erythropoïese. *Zeit. f. ges. exp. Med.*, 1926, t. 52, p. 140-149.
- JENEY. — Influence of protein free liver and spleen extracts on blood regeneration. *J. exp. Med.*, 1927, n° 5, p. 689-698.
- JENEY (A.) et JOBLING (J. W.). — Effect of certain tissue extracts on Red blood cell Regeneration. *J. exp. Med.*, 1927, n° 6, p. 839-846.
- JOSAM (H.). — Über ovarien u Blutbildung. *Z. für Klin. Med.*, 1928, t. 107, p. 151-161.
- JURGENS (R.). — Über den Einfluss von Moorbädern auf das rote und weisse Blütbild. *Deut. Med. Woch.*, 1929, t. II, p. 1172-1174.
- KAMINER (S.) et ROHNSTEIN (R.). — Über Phenylhydrazin Anämie. *Berl. Klin. Woch.*, 30 juillet 1900, p. 687-689.
- KEEFER et YANG. — Value of liver and iron in the treatment of secondary Anemia. *J. Am.*, 24 aug. 1929.
- KEY. — Studies on Erythrocytes with special reference to polychromatophilia and mitochondria. *Arch. Int. Med. Nov.*, 1921, p. 511-520.
- KITJAMA (K.). — Die Vitalgranulierung und die Polychromasie der Erythrocyten. *Folia Heam.*, 1930, t. 41, fasc. 4, p. 395-398, 1 pl. coul.
- KRUMBHAAR (E. B.). — Reticulosis : Increased % of reticulated Erythrocytes in the péripheral blood. *J. Lab. et Clin. Med.*, t. 8, oct., 1922.
- Increased percentage of reticulated Erythrocytes in the péripheral blood. *J. of Lab. et Clin. Med.*, 1922, p. 11-19.
- LARABÉE (R. C.). — The severe anémias of pregnancy and the puerperium. *A. J. Med. Sci.*, sept., 1925, 93, p. 371.
- LAUR (C. M.). — Au sujet du diagnostic hématologique de la lymphogranulomatoïse maligne. Congrès d'Anat. Pathol., 1931.
- LEE, MINOT et VINCENT. — Splenectomy in pernicious anemia. *J. A. M. A.*, sept., 1916, p. 719-723.
- LEVADITI. — *J. de Phys. et Pathol. gen.*, 1901, n° 3.
- LUZZATO (A.) et RAVENNA (F.). — Über die Zahl der vitalfärbbaren roten Blutkörperchen in normalen u pathol. Zuständen. *Fol. Heam. (Archiv.)*, 13 janvier 1912.
- LITTEN (M.). — Über basophile Körnungen in roten Blutkörperchen. *D. Med. Woch.*, n° 44, 1899; p. 717-719, 1899.
- MARAGLIANO et CASTELLINO. — Sulla necrobiôsi lenta dei globuli rossi in condizioni normali e patologiche. *Revista Clin.*, 1891, n° 4.

- MEWES (F.). — Über Mitochondrien, bzw Chondrionten in den Zellen junger Embryonen. *Anatomischer Anzeiger*, t. 31, 1907, p. 399.
- Gesammelte Studien au den roten Blüt Körperchen der Amphibien. *Archiv. für Mikoscop. Anat.*, 1911, t. 77, p. 465.
- MICHAELIS (L.). — Ueber Fettfarbstoffe. *D. Arch. f. Klin. Med.*, 1901, p. 164-190.
- MICHEL. — Splénohæmolytischer Icterus. *Wein. Klin. Woch.*, 1911, p. 1269-1271.
- MINOT (G. R.), COLIN (E.) et MURPHY (W. P.). — Treatment of pernicious anemia with liver extract. Effects on production of immature et mature R. Bl. Cells. *Am. J. of Med. Sc.*, t. 175, p. 599, 1928.
- Treatment of Pernicious Anemia with liver extract. *Am. J. of Med. Sciences*, 1928, n° 5, p. 599-621.
- MINOT (G.) et HEATH (C. W.). — The response of Reticulocytes to iron. *Am. J. of Med. Sc.*, 1932, n° 1. p. 110-121.
- MINOT (G. R.) et MURPHY (W. P.). — Treatment of pernicious Anemia by a special diet. *J. A. M. A.*, t. 87, 1926, p. 470.
- A Diet rich in liver in the Treatment of Pernicious Anemia. *J. A. M. A.*, t. 89, p. 759, 1927.
- MINOT (G. R.), MURPHY (W.) et STETSON (R.). — The Response of the Reticulocytes to Liver therapy. *Am. Journ. of Med. Sciences*, 1928, n° 5, p. 581-600.
- MOLDAWSKY (J. W.). — Morphologie, diagnostische und prognostische Bedeutung der Granulofilocyten. *Med. Welt.*, 1929, n° 30, p. 1068 et p. 1099, n° 31.
- Die practische Bedeutung der supravitalen Färbung der Roten Blüt Körperchen. *Jahrbüch. f. Kinderheilkunde*, t. CXVI, 1927, fasc. 2, p. 81-97, 1 pl.
- MORAWITZ et ITAMI. — Klinische Untersuchungen über Blutregeneration (Die methode der O zehrung). *Deut. Arch. f. Klin. Med.*, 1910, t. C, p. 190-204.
- MORRIS (R. S.). — Nuclear Particles in the Erythrocytes. *Arch. Int. Med.*, t. 3, mars, 1909, p. 93.
- PAPPENHEIM (A.). — Abstammung u Entstehung der roten Blutzellen. *Wirshows Archiv.*, t. 151, p. 89-157.
- Einige Bemerkungen zu den Arbeiten über die basophile Punctierung der Erythrozyten. *Folia Heam.*, X, 1910, p. 302-308.
- Einige Bemerkungen über die Methoden u Ergebnisse der

- vitalfarbung an den Erythrocyten. *Fol. Heam.*, 1907, supplément IV, p. 46-50, 1 planche couleur.
- *Fol. Heam.*, 7 fasc. 2 1911 (discussion).
- PEABODY (W. F.). — The Pathology of the Bone Marrow in pernicious anemia. *Am. J. of Pathology*, 1927, t. III, p. 179-1.
- PEPPER et PERRY. — Observations on vitally stainable reticulation of Erythrocytes in vitro. *Arch. Int. Med.*, 1922, t. 30, p. 801-810.
- PEPPER et PEET. — The resistance of reticulated Erythrocytes. *Arch. of Int. Med.*, t. XII, p. 81, 1913 (juillet).
- PERSONS (E. L.). — Studies on red blood cell diameter (especially Reticulocytes). *Journal Clin. Investigation*, 1929, t. 7, p. 615 et suiv, 3 études complètes.
- PLEHN (A.). — Über Tropenanemie u ihre Beziehungen zur latenten u. manifesten malaria infection. *D. Med. Woch.*, n° 29, p. 482-484, 1899.
- PÖLZL (A.). — Blutveränderungen bei Menstruation *Münch. Med. Woch.*, 1910, p. 333.
- Über menstruelle Veränder. des Blutbefundes. *W. Klin. Woch.*, 1910, n° 7, p. 238-240.
- RAVENNA. — Les hématies granuleuses dans l'anémie primit. et second. traitée par le Fe et l'As. *Il Policlinico*, 1911, fasc. 3, p. 84-90.
- REICH (C.). — The effect of blood transfusion on bone marrow activity. *Am. J. of med. Sciences*, 1931, p. 513-520.
- REŽNIKOFF (P.). — Rectal administration of liver extract (cod). *J. A. M. A.*, 1929, t. 93, p. 367-368.
- ROBERTSON (O. H.). — The effects of exper. plethora ou blood production. *Journal of exp. Med.*, 1917, t. 26, p. 221-238.
- ROSENOW (G.). — Behandlung der Perniciösen Anemie mit trockenem Schweinemagen. *Klin. Woch.*, 1930, n° 4, p. 652-653 (Bibliographie complète).
- SABRAZÈS (J.). — A propos du sang des Saturnins, de la polychromatophilie des hématies granulo-réticulo-filamenteuses et des hématies à granulat. basophiles. *Fol. Heam.*, 1910, p. 103-111.
- SABRAZÈS, GOURRET et LÉGER. — Les hématies à granulations basophiles dans le saturnisme expérimental et clinique. *J. Pathol. et Physiol. générale*, 15 nov. 1900.
- SAPPINGTON (C. O.). — The occurrence of mitochondria in the red blood corpuscles during experimental anemia. *Arch. of Int. Med.*, t. 21, 1918, p. 695-704.

- SAVAS-NITTIS. — Supra vital Staining phenomena in Erythrocytes. *Folia Heamatol.*, t. 41, 1930, fasc. 4, p. 385-394.
- SCHILLING-TORGAU (V.). — Arbeiten über die Erythrozyten. *Folia Heamatologica Arch.*, 14, 1924, 1912.
- SCHMIDT (M. B.). — Über Blutzellenbildung in Leber und Milz. *Ziegler's Beiträge*, t. XI, 1892, p. 199-233.
- SCHULEMANN (W.). — Chemische konstitution und vitalfärbungs vermogen. *Zeit. für exp. Pathol. u Ther.*, t. XI, p. 307-332, 1912.
- SEYDERHELM (R.) et TAMMANN (T.). — Die Bedeutung der Galle für die Blutmauserang. *Klin. Woch.*, t. 6, 1177, 1927.
- SEYFAHRT (C.). — Exper u Klin. Untersuchungen über die vital-färbbaren Erythrocyten. *Folia Heamatologica*, t. 34, p. 7 1927.
- SEYFAHRT (C.) et JURGENS (R.). — Untersuchungen über das Verhalten vitalgranulirter roter Blutzellen bei Embryonen u Neugeborenen. *Virchow's Archiv. f. path. Anat.*, t. 26, 1927-1928, p. 676-699.
- SEYLER (Hoppe). — Ueber die Wirkung des Phenylhydrazins auf den Organismus. *Zeit. f. physiol. Chemie*, 1885, t. IX, p. 34-39.
- SHEN (D.). — Aplastic anemias in north china. *Nat. Med. J. China*, t. 14, 389, 1928.
- SIMMEL. — Fractionierte Heamolyse. *Med. Gesellschaft in Jena, in Klin. Wochenschrift*, 1923, p. 1864.
- SWATZ-KAYA, ISTOMANOWA (M.) et MYASSUCKOW. — Experimentelle Untersuchungen über Erythropoiese, III. *Z. f. Ges. exp. Med.*, t. 52, p. 150, 1926.
- TIXIER. — Réact. de la moelle osseuse dans l'ictère hémolytique. *Soc. de Biol.*, 25 janvier 1908.
- VALENTINE (O.). — Normoblast, Reticulocyte, Erythrocyte. *J. of Path. and Bacteriol.*, 1928, II, t. 31, p. 473-475, 3 fig.
- VOGEL (K.) et MAC MURDY (M. F.). — Blood transfusion and regeneration in pernicious anemia. *Arch. of Int. Med.*, 1913, p. 707-722.
- YANG et BERGLUND. — Differences in reticulocyte behaviour in anemia from Malaria et in pernicious anemia. *Proc. Soc. Exper. Biol.*, t. 26, 417, 1929.
- YANG (C. S.) et KEEFER (C.) (China). — Response of R. in secondary anemias following various forms of treatment. *Arch. of Int. Med.*, t. 45, 1930, p. 456-464.

- YANG et KEEFER. — The treatment for secondary anemia, 126 cases. *Arch. Int. Med.*, 1931, p. 536, p. 575.
- WHIPPLE (G. H.). — Pigment metabolism and regeneration of Hemoglobine in the Body. *Arch. Int. Med.*, 1922, t. 29, p. 74.
- WURMSER (R.). — Les Oxydations en Biologie (d'après les travaux récents). Edition Chahine, 1927, 54 p.
-

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER

	Pages
Historique.....	8

CHAPITRE II

Techniques

A. — Colorations vitales.....	20
B. — Colorations supra-vitales.....	22
C. — Techniques hémolytiques	25
D. — Numération des réticulocytes.....	28

CHAPITRE III

Nature des réticulocytes

Affinités colorantes	31
Nature chimique	35
Nature biologique des réticulocytes.....	42
Rapport avec le noyau et la chromatine.....	47
Rapport avec les mitochondries.....	50
Rapport avec la polychromatophilie et avec les crythrocytes ponctuées	54

CHAPITRE IV

La réticulocytose à l'état normal et pathologique

Les réticulocytes chez le sujet normal.....	57
Réticulocytose physiologique expérimentale.....	61

Les réticulocytes sous les influences physiques.....	62
Les réticulocytes en pathogénie sanguine.....	65
Anémies	65
Anémies pernicieuses type Biermer.....	68
Anémies secondaires par hémorragies.....	78
Anémies secondaires non post-hémorragiques.....	87

CHAPITRE V

La réticulocytose à l'état normal et pathologique (*suite*)

Réticulocytes dans les polyglobulies.....	94
Leucémies	96
Maladie de Hodgkin.....	103
Réticulocytes dans les affections générales et les intoxications	108
Néoplasies	108
Influence du corps thyroïde sur la réticulocytose.....	119
Saturnisme	123
Réticulocytes dans l'ictère hémolytique.....	127
Réticulocytes dans l'intoxication par la phénylhydrazine... ..	133

CHAPITRE VI

Aperçu général

Réticulocytoses passagères.....	141
Réticulocytoses permanentes.....	143
CONCLUSIONS	148
BIBLIOGRAPHIE	150

PLANCHE I

Fig. A. — Sang au cours d'une anémie en phase de réparation chez un saturnin.

Préparation supra-vitale au bleu azur II, séchée, fixée à l'alcool méthylique et surcolorée par le bleu de Loeffler.

Réticulocytes et Erythrocytes ponctués.

Fig. B. — Sang humain. Coloration supra-vitale au bleu de méthylène.

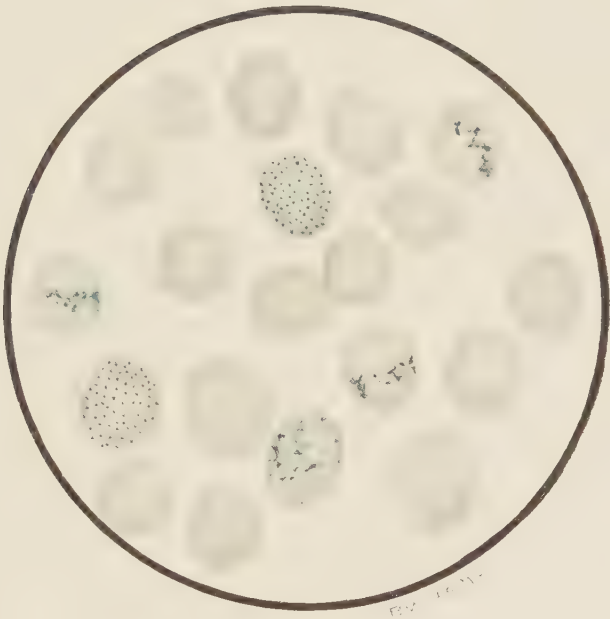


FIG. A.

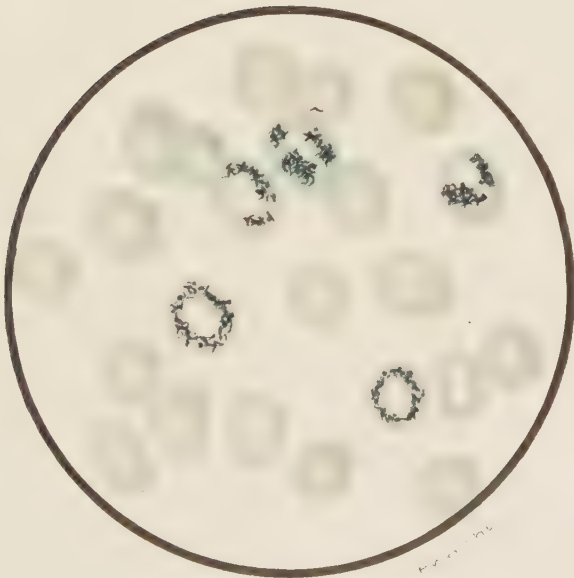


FIG. B.

PLANCHE I.

PLANCHE II

Fig. A. — Sang de pigeon. Coloration supra-vitale au bleu crésyl, sur-coloration au Tribaudeau.

Fig. B. — Sang de grenouille (*Rana esculenta*). Coloration post-vitale par azur II.

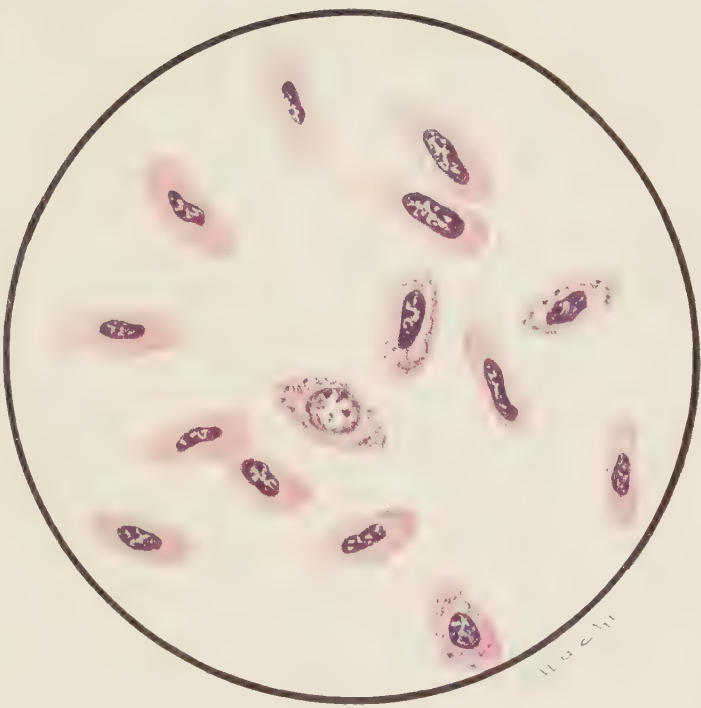


FIG. A.

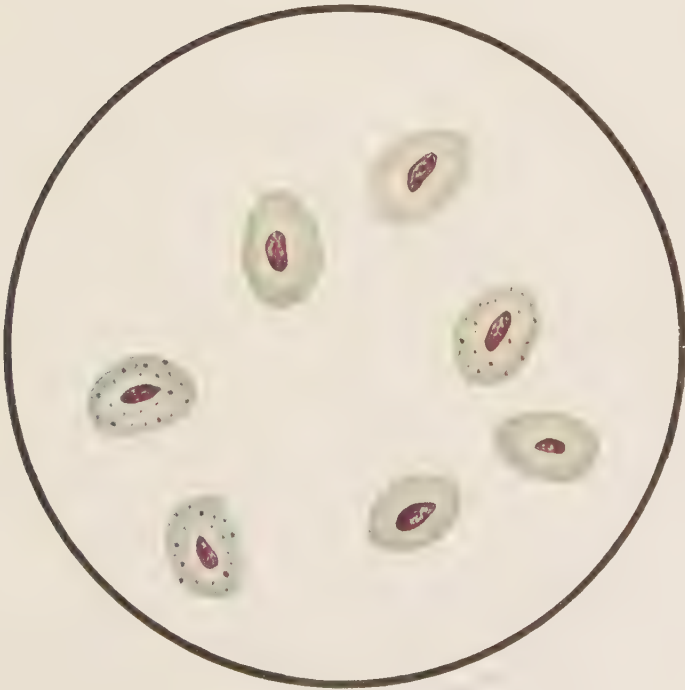


FIG. B.

PLANCHE III

Fig. A. — Sang humain. Coloration supra-vitale au rouge neutre.

Fig. B. — Sang humain. Coloration supra-vitale par le bleu de Toluidine,
fixation aux vapeurs d'acide osmique (solution aqueuse à 1 %).

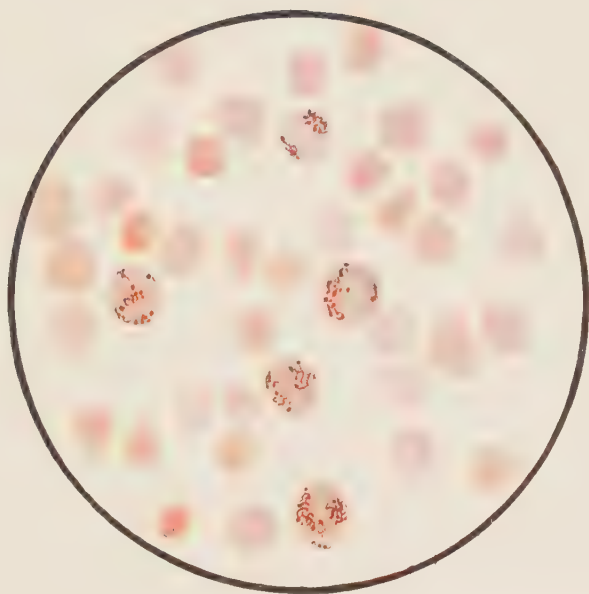


FIG. A.

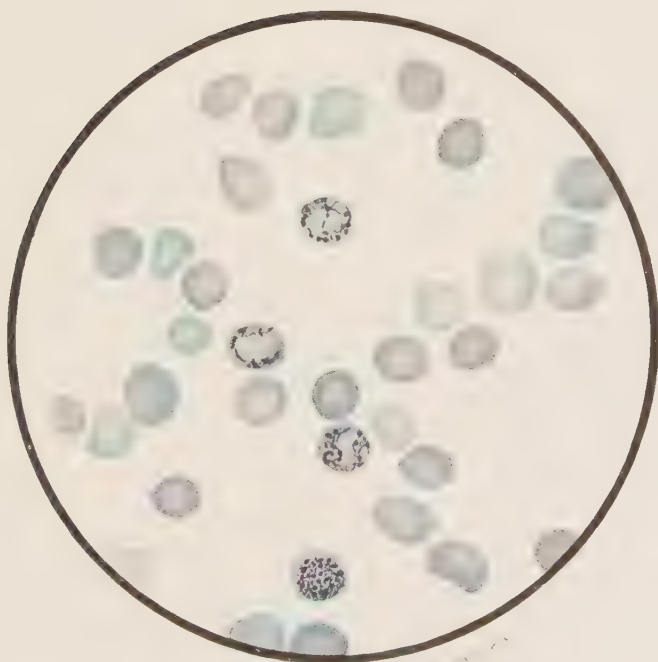


FIG. B.

PLANCHE III.

PLANCHE IV

Fig. A. — Frottis de moelle osseuse. Préparation supra-vitale surcolorée au Tribaudeau.

Fig. B. — Préparation supra-vitale surcolorée au Tribaudeau.

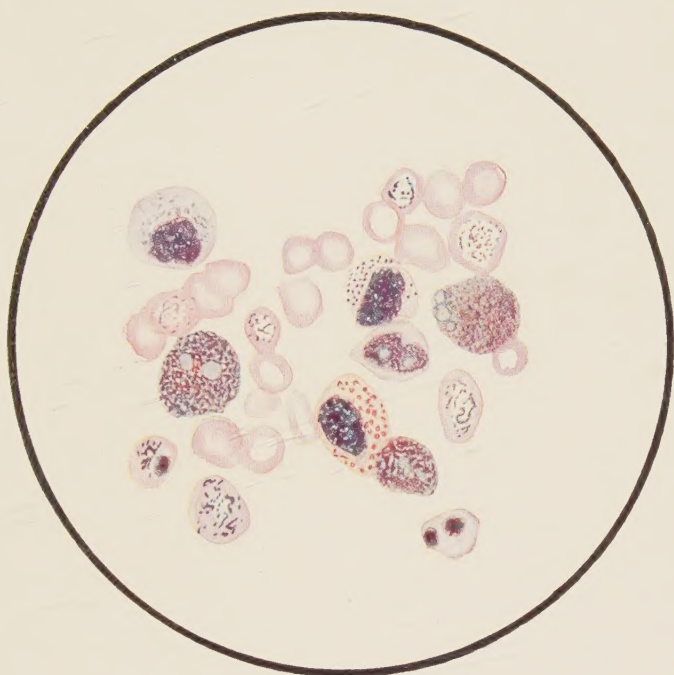


FIG. A.

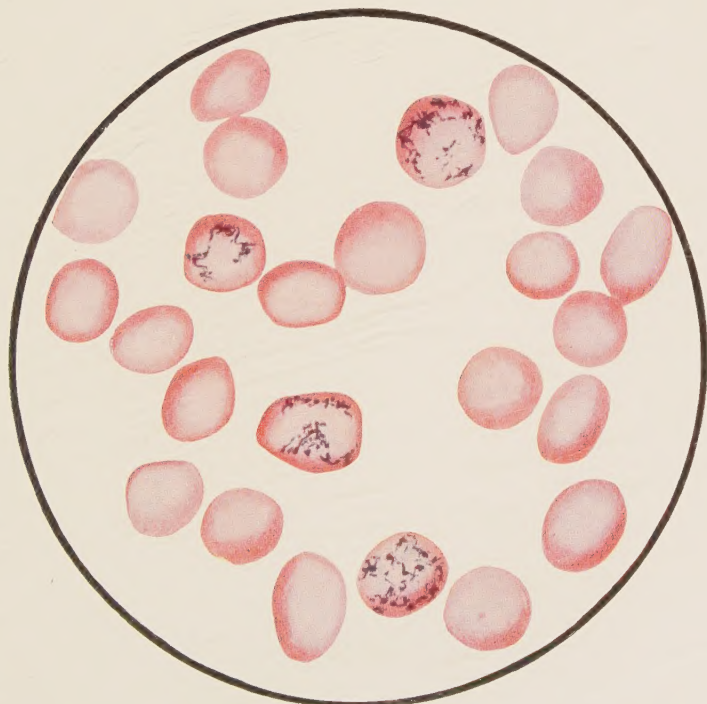


FIG. B.

PLANCHE IV.

